

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHÄLTNIS
DER MILCHSÄURE-ISOMEREN IM PANSEN
UND IHRE AUSSCHIEDUNG IM HARN**

Claus Bartelmus

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551923_0052

Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie im Fachbereich Tiermedizin
der Universität München

Angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. D. Giesecke

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VERHÄLTNIS
DER MILCHSÄURE - ISOMEREN IM PANSEN
UND IHRE AUSSCHIEDUNG IM HARN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Claus Bartelmus
aus Waldenburg/Niederschlesien

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. D. Giesecke
Korreferent: Prof. Dr. G. Dirksen

Tag der Promotion: 18. Juli 1975



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1.0 EINFÜHRENDE LITERATUR UND PROBLEMSTELLUNG	1
1.1 Milchsäure im Wiederkäuerfutter	1
1.2 Intermediäre Milchsäure- bildung im Pansen	4
1.3 Milchsäure in der Biochemie der Pansenacidose	10
1.4 Problemstellung	12
2.0 MATERIAL UND METHODEN	15
2.1 Versuchstiere, Haltung und Fütterung	15
2.2 Intraruminale Infusionen	16
2.3 Entnahme von Proben, pH-Messung und Konservierung	17
2.3.1 Pansenflüssigkeit	17
2.3.2 Blutproben	18
2.3.3 Harnproben	18
2.3.4 pH-Messung	18
2.3.5 Konservierung der Proben	18
2.4 Analytische Methoden	18
2.4.1 Kolorimetrische Bestimmung von DL-Milchsäure	19
2.4.2 Enzymatische Bestimmung von L(+)- und D(-)-Milchsäure	19
2.5 Auswertung und statistische Methoden	21

	Seite
3.0	ERGEBNISSE 22
3.1	Milchsäure in Pansenflüssigkeit, Blut und Harn nach intraruminaler Milchsäureinfusion 22
3.2	Einfluß intraruminaler Zuckerinfusionen auf Milchsäure-Isomere und pH-Werte 27
3.2.1	Milchsäure-Isomere in der Pansenflüssigkeit nach Infusion von Glucose und Fructose 27
3.2.2	Milchsäure-Isomere in der Pansenflüssigkeit nach Infusion von Saccharose 33
3.2.3	Milchsäure-Isomere in Blut und Harn nach Infusion von Saccharose 39
3.3	Einfluß der Überfütterung mit Stärke auf Milchsäure-Isomere und pH-Werte 42
3.3.1	Milchsäure-Isomere und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit 42
3.3.2	Beziehungen zwischen Milchsäurekonzentration, D-Milchsäureanteil und pH-Wert 49
3.3.3	Milchsäure-Isomere in Blut und Harn und pH-Werte im Harn 49
3.4	Vergleichende Auswertung der D-Milchsäurebestimmung mit verschiedenen Methoden 56
4.0	DISKUSSION 58
5.0	ZUSAMMENFASSUNG 63
	SUMMARY
6.0	VERZEICHNIS DES SCHRIFTTUMS 67

1.0 EINFÜHRENDE LITERATUR UND PROBLEMSTELLUNG

Milchsäure ist in vielen Naturprodukten weit verbreitet, und auch im Verdauungsstoffwechsel vieler Nutztiere können hohe Milchsäurekonzentrationen entstehen. So hat schon MANGOLD (1950) darauf hingewiesen, daß im Magen des Kaninchens, des Pferdes, des Schweines und im Kropf des Huhnes typische Milchsäuregärungen ablaufen. Hier wie anderswo tragen sie sicherlich dazu bei, Fäulniserreger und Eiweißzersetzung zu unterdrücken.

Im Verdauungstrakt der Wiederkäuer liegen in dieser Hinsicht wohl besondere Verhältnisse vor: Erstens können große Milchsäuremengen bereits mit dem Futter aufgenommen werden, zweitens treten in den typischen Fermentationsräumen des Vormagens unter physiologischen Bedingungen nur minimale Milchsäurekonzentrationen auf, und schließlich können Entgleisungen des Vormagenstoffwechsels zu Milchsäureintoxikationen führen, wie sie bisher bei anderen Haustieren nicht bekannt geworden sind. Diese verschiedenartigen Voraussetzungen bedürfen zunächst einer etwas ausführlicheren Erörterung, bevor auf die Problemstellung der eigenen Arbeit eingegangen wird.

1.1 Milchsäure im Wiederkäuerfutter

Wiederkäuer nehmen Milchsäure in teils beträchtlicher Menge auf, wenn durch Milchsäuregärung konservierte Sauerfutter (Silagen) verabreicht werden. Der Milchsäuregehalt in Silagen variiert von weniger als 1 % bis über 16 % der Trockenmasse (SATTER u. ESDALE, 1967); einige Beispiele, die den Einfluß der Art und

Tabelle 1

Milchsäure-Gehalt in verschiedenen Silagen

Art der Silage	Trockensubstanz (g/100g frisch)	pH	Milchsäure (g/100g)	Literatur
Landsberger Gemenge				
frisch	-	-	1.2	ORTH u. KAUFMANN (1961)
angewelkt	-	-	3.5	
Weidelgras	-	-	2.1	
Gras	19.6	4.9	0.06	EKERN u. REID (1963)
	20.4	5.1	0.14	
	40.9	4.6	9.81	
Gras	25.9	4.4-5.0	3.8	ELLIOT, BENETT u. ARCHIBALD (1957)
Grünmais	21.6	3.7-4.1	6.28	
	27.6	4.0	5.8	
Grünmais				
Milchreife	22.1	3.4	13.6	SCHAADT u. JOHNSON (1969)
Vollreife	71.7	4.6	0.6	

des Reifestadiums des Siliergutes erkennen lassen, sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Entsprechend diesen Unterschieden schwankt auch die Milchsäureaufnahme in weiten Grenzen. Mittlere Tageswerte werden für Rinder mit 270 - 453 g (SATTER u. ESDALE, 1967) bis zu 550 - 1170 g Milchsäure (ORTH u. KAUFMANN, 1961) angegeben.

Geht man von den in Tabelle 1 zusammengestellten Daten aus, so können bei einer Tagesaufnahme von durchschnittlich 10 kg Trockenmasse Milchsäuremengen von maximal 1360 g verzehrt werden. Im Mittel dürfte hingegen mit 500 - 1000 g zu rechnen sein. Soweit bei der Silierung Harnstoff zugesetzt wird, ist ein wesentlicher Anteil der Milchsäure zum Zeitpunkt der Verfütterung als Ammonium-Lactat zu erwarten.

Als Nichtprotein-N-Verbindung findet Ammonium-lactat auch in anderer Form vielseitiges Interesse. So liegen positive Erfahrungen (CHOMYSZYN et al., 1964) mit zu Milchsäure vergorener Melasse vor, die mit Ammoniakwasser teilneutralisiert und eingedickt dem Futter zugemischt wurde. Bei Schafen ließen sich bis zu 200 g Ammonium-Lactat, entsprechend 168 g Milchsäure, problemlos verabreichen (LOOSLI u. McDONALD, 1968). ALLEN und Mitarbeiter (1973) haben in umfangreichen vergleichenden Fütterungsversuchen mit Zusätzen von Sojaschrot, Harnstoff und Ammonium-lactat bei Rindern sogar zeigen können, daß Tagesmengen von 312 g Ammonium-Lactat im Futter - entsprechend ein Drittel des Gesamt-N - signifikant bessere Wachstumsraten und Futtermittelverwertungsquotienten erbrachten als entsprechende Gaben von Sojaschrot oder Harnstoff.

Ober Rolle und Schicksal von D(-) und L(+)-Milchsäure

in derartigen Fütterungsversuchen liegen nur wenige Befunde vor. In Silagen sind offenbar beide Milchsäure-Isomeren vorhanden (SATTER u. ESDALE, 1967; MACKENZIE, 1967). Aus indirekten Bestimmungen mittels einer Differenzmethode geht hervor (SCHAADT u. JOHNSON, 1969), daß Silage von in frühem Reifestadium geerntetem Grünmais bis zu 78.7 % D-Milchsäure enthalten kann. Die Aufnahme dieses Isomers beträgt dann über 1000 g/Tag. JUHASZ (1972) hat ausdrücklich darauf hingewiesen, daß die Wirkungen der Milchsäure-Isomeren auf den Wiederkäuerorganismus bei Verfütterung von vergorener und ammoniakneutralisierter Melasse dringend zu klären sind.

1.2 Intermediäre Milchsäurebildung im Pansen

Entgegen verschiedenen monogastrischen Tierarten, die hohe Milchsäurekonzentrationen im oberen Verdauungstrakt aufweisen, werden im Pansen der Wiederkäuer unter physiologischen Verhältnissen meist recht geringe Milchsäurespiegel gefunden. Sie liegen häufig niedriger als der Milchsäuregehalt im Blut (BRÖGGEMANN u. GIESECKE, 1967), variieren aber in erheblichem Umfange mit der jeweiligen Fütterung (siehe Tabelle 2), welche nicht nur Milchsäure und/oder vergärbare Substrate zuführt, sondern auch die Zusammensetzung der Pansenflora beeinflußt.

Abgesehen von Problemen der Umstellung auf bzw. Überfütterung mit stärkereichen Rationen (siehe unten), scheinen hohe Stärkegaben nach entsprechender Anpassungszeit ohne Schwierigkeiten vertragen zu werden. So sind auch Rationen mit Getreideanteilen bis zu 80 % (TUCKER et al., 1968) keine Seltenheit.

Eine deutliche Erhöhung des Milchsäuregehaltes im Pansen erfolgt nach Tabelle 2 einmal durch gesteigerte Aufnahme von Milchsäure in Form von Silage, zum anderen durch Vergärung von Saccharose zu Milchsäure bei Rübenfütterung. SUTTON (1967) inkubierte Saccharose und mehrere Monosaccharide in Pansen-saft von Rindern, um Unterschiede in den Fermentationsprodukten eingehender zu kennzeichnen. Von den erzielten Ergebnissen ist für diese Betrachtung von Bedeutung, daß lediglich die Verwendung von Saccharose, Glucose und Fructose zur Bildung von Milchsäure führten, nicht hingegen Galaktose, Xylose und Arabinose. MACKENZIE (1967) zitiert eine Arbeit von KROGH (1960), wonach auch Lactose zu Milchsäure umgesetzt werden kann.

Die Kapazität der zur Erzeugung von Milchsäure befähigten Mikroorganismen ist beachtlich. Von ungefähr 24 hauptsächlich vorhandenen Bakterienarten im Pansen bildet etwa die Hälfte aus Kohlenhydraten Lactat - meist neben anderen Fermentationsprodukten. Bei Stärkeabbau sind besonders *Streptococcus bovis*, *Lactobacillus* spp., *Succinivibrio dextrinosolvens* und *Eubacterium ruminantium* lactatbildend wirksam (GIESECKE, 1973). Außerdem wurden *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Lachnospira multiparus*, *Selenomonas*arten und holotriche Protozoen genannt (MACKENZIE, 1967).

DUNLOP und HAMMOND (1965) verwiesen auf Überfütterungsversuche (KROGH, 1959-1961) an Schafen mit Saccharose, Lactose und Stärke, wonach eine wechselnde Zunahme von amylolytischen Streptokokken, pH-Abfall und eine zahlenmäßige Verringerung von Protozoen und Gram-negativer Flora einschließlich cellulolytischer Species festgestellt wurde. Bei fortgesetztem pH-Abfall im Pansen traten vermehrt Lacto-

Tabelle 2

Durchschnittlicher Milchsäure-Gehalt in der Pansenflüssigkeit
bei verschiedenartiger Fütterung

Art der Fütterung	Tier- art	Milchsäure ^a (mM/l)	Literatur
Wiesenheu	Rind	0.6-2.4	WALDO und
Luzerneheu	"	0.1-2.2	SCHULTZ (1956)
Grassilage	"	0.1-0.9 (23.2) ^b	
Maissilage	"	0.2-5.7 (15.8) ^b	
Hohe Stärkegaben	"	1.1-2.2	ORTH und
Hoher Celluloseanteil	"	2.2-3.3	KAUFMANN (1961)
Silagen	"	3.3-5.5	
Hoher Rübenanteil	"	12.0-16.0	
Wiesengras	Schaf	1.9-2.7	BRÜGGEMANN und
Wiesenheu	"	0.8-1.7	GIESECKE (1967)
Heu+Kraftfutter(1:1)	"	0.8-1.9	
Heu+Kraftfutter(1:1) gemahlen, pelletiert	"	0.9-2.0	
Halbgereinigte Diät (u.a. 40% Cellulose, 35% Stärke)	"	0.8-1.8	

a) ohne Werte vor Fütterung (≤ 0.1 mM/l)

b) Maximalwerte 30 Minuten nach Fütterung

bacillus-Arten auf bei Eindämmung des Streptokokkenwachstums und völligem Schwund von Protozoen und cellulolytischen Bakterien. Bei einigen Tieren entwickelten sich verschiedentlich Hefen.

Diese Ergebnisse stimmen überein mit Beobachtungen von DIRKSEN (1967) an Rindern mit Pansenacidose. Wie aus Unter-

suchungen von OGIMOTO und GIESECKE (1974) hervor-
geht, bewirkte die plötzliche Verabreichung von stärke-
reichen Rationen binnen weniger Tage eine starke
Zunahme der amylytischen Streptokokken bis auf das
200fache. Mit den amylytischen Streptokokken nahm
zugleich die Milchsäurekonzentration in erheblichem
Maße zu.

Die Milchsäurebildung aus Kohlenhydraten im Pansen
folgt weitgehend bekannten Stoffwechselwegen. Die
nach Hydrolyse von Oligo- und Polysacchariden aufge-
fundenen Zucker, unter denen meist Glucose und Fruc-
tose bei weitem überwiegen, werden hauptsächlich über
Glucose-Phosphat in den Glykolyse-Weg eingeschleust
(WALLNÖFER, BALDWIN u. STAGNO, 1966) und über Pyru-
vat zu Milchsäure und kurzen Fettsäuren umgesetzt.
Soweit lactacidigene Bakterien wie Streptokokken und
Lactobazillen vorherrschen oder durch rasche Prolife-
ration ins Übergewicht geraten, kann Milchsäure zum
hauptsächlichen Stoffwechselprodukt der Kohlenhydrate
werden (DEMEYER u. GIESECKE, 1973). Andererseits kön-
nen unter solchen Bedingungen auch Bakterienarten, die
normalerweise andere Metaboliten als Milchsäure er-
zeugen wie z. B. die cellulolytische Species *Rumino-*
coccus flavefaciens, zu einer homofermentativen Milch-
säuregärung übergehen (HOPGOOD u. WALKER, 1967). Bei
hohen Stärkegaben dürften jedoch ganz besonders amy-
lytische Gram-positive Kokken für die Milchsäure-
bildung verantwortlich zu machen sein (OGIMOTO u.
GIESECKE, 1974).

Obgleich die physiologischen Milchsäurekonzentratio-
nen im Pansen sehr niedrig sind, wie aus Tabelle 2
ersichtlich ist, können daraus noch keine Rückschlüsse
auf die Bedeutung von Milchsäure als Intermediärpro-
dukt des Vormagenstoffwechsels gezogen werden, wenn

eine rasche Metabolisierung das Produkt laufend beseitigt und somit die "Poolgröße" niedrig und die "Turnover-Rate" hoch hält. Nach Messungen von JAYASURIYA und HUNGATE (1959) durchlaufen bei rauhfutterreicher Fütterung weniger als 1 % der Kohlenhydrate die Stufe der Milchsäure, bei Kraftfütterationen erhöhte sich dieser Anteil auf ca. 17 %. Allerdings erfolgte bei den diesbezüglichen Versuchen lediglich eine enzymatische Milchsäurebestimmung mit L(+)-Lactatdehydrogenase, so daß das D(-)-Isomer unberücksichtigt blieb. Setzt man seinen Anteil nur ebenso hoch an wie L(+)-Milchsäure, könnte maximal immerhin ein Drittel der Kohlenhydratfermentation über Milchsäure laufen.

Milchsäure kann aus dem Vormagen durch Fermentation zu kurzen Fettsäuren, CO_2 und H_2 , durch direkte Resorption und durch Passage in den Labmagen beseitigt werden. Wenn bei rauhfutterreicher Fütterung große Milchsäuremengen in den Pansen gelangen, werden 50 - 60 % durch Resorption eliminiert, wie Infusionsversuche mit Polyäthylenglykol als Bezugssubstanz gezeigt haben (GIESECKE, 1968). Trotzdem erfolgt die Resorption von Milchsäure nach Messungen an bewußtlosen Schafen langsamer als von kurzen Fettsäuren, und zwischen den beiden isomeren Formen von Milchsäure scheinen dabei keine Unterschiede zu bestehen (MACKENZIE, 1967).

Nach ausreichender Adaptation der lactilytischen Flora kann Milchsäure sehr schnell im Pansen umgesetzt werden. So geht aus Versuchen von JAYASURIYA und HUNGATE (1959) eine Zunahme der Geschwindigkeitskonstante von $k \sim 0.04$ auf $k \sim 0.4 - 0.8 \text{ (min}^{-1}\text{)}$ hervor, was - bei gleichbleibender Konzentration - einer 10-20fachen Steigerung des Umsatzes entspricht. Damit stimmen Messungen

in vitro überein (BRÜGGEMANN u. GIESECKE, 1967), die bei einer Konzentration von 20 mM Milchsäure mit nichtadaptierter und adaptierter Pansenflora eine Zunahme des Lactatumsatzes von ca. 3 auf 30 mM/l·h⁻¹ ergaben.

Die Stoffwechselwege der Milchsäure im Pansen sind inzwischen weitgehend aufgeklärt. Ein zuerst von JOHNS (1949) bei *Veillonella alcalescens* beschriebener Weg bezieht zunächst die Fixierung von CO₂ am Pyruvat und eine spätere Decarboxylierung von Succinat zu Propionat ein. Dieser "Succinat - Weg" ist außer für *V. alcalescens* auch für *Selenomonas ruminantium* (PAYNTER u. ELSDEN, 1970) und möglicherweise noch für andere zur Decarboxylierung von Succinat befähigte Mikroorganismen (OGIMOTO u. SUTO, 1965) charakteristisch.

ELSDEN und Mitarbeiter (1956) haben daneben bei großen Gram-negativen Kokken (Synonyma: *LC*, *Peptostreptococcus elsdonii*, *Megasphaera elsdonii*) einen reduktiven über Lactyl-CoA und Acryl-CoA zu Propionat führenden Weg beschrieben, der als "Acrylat-Weg" bekannt und in zahlreichen Versuchen bestätigt wurde (DEMEYER u. GIESECKE, 1973).

Unter den meisten Fütterungsbedingungen herrscht der Milchsäureabbau über den Succinat-Weg vor, aber bei Kraftfuttermitteln tritt der Acrylat-Weg in den Vordergrund (MACKENZIE, 1967; DEMEYER u. GIESECKE, 1973). Das hat bedeutende Konsequenzen für die Fermentationsprodukte im Pansen: Während über den Succinat-Weg Essig- und Propionsäure im äquimolaren Verhältnis entstehen (JOHNS, 1949), führt der Acrylat-Weg zu einem hohen Anteil von Propion-, Butter- und Valeriansäure, so daß diese einschließlich Essigsäure in äquimolarem Verhältnis vorliegen (ELSDEN et al., 1956; GUTIERREZ

et al., 1959; LADD u. WALKER, 1965). Bei besonderen Diät-Typen kann sogar Capronsäure in Anteilen von 1 - 2 Mol% (BRÜGGEMANN, GIESECKE u. LAWLOR, 1966) bzw. 10 - 15 Mol% (ØRSKOV, FLATT, MOE u. OLTJEN, 1967) im Panseninhalt gefunden werden, die ebenfalls auf den reduktiven Lactatumsatz im Pansen zurückzuführen sind.

Damit ist offensichtlich, daß die Metabolisierung von Milchsäure im Pansen die Zusammensetzung der resorbierbaren Fermentationsprodukte und damit auch die Leistung der Wiederkäuer in erheblichem Maße beeinflussen kann. Die Isomeren der Milchsäure blieben bei den biochemischen Untersuchungen bisher weitgehend unberücksichtigt. Eine kürzlich erschienene Arbeit (OGIMOTO u. GIESECKE, 1974) läßt jedoch darauf schließen, daß L-Milchsäure über beide Wege, aber D-Milchsäure hauptsächlich über den Acrylat-Weg metabolisiert wird. Der daraus resultierende Einfluß auf die Fermentationsprodukte dürfte dann überwiegend davon abhängen, welches Milchsäure-Isomer unter den jeweiligen Bedingungen bevorzugt gebildet wird.

1.3 Milchsäure in der Biochemie der Pansenacidose

Eine Erhöhung der Milchsäurekonzentrationen im Pansen, wie sie besonders nach zu starkem Verzehr von leicht vergärbaren Kohlenhydraten auftreten kann, scheint die eigentliche Ursache für das Ansteigen der Acidität im Pansen zu sein. Zwar können zunächst auch andere Faktoren wie Zunahme der kurzen Fettsäuren und Verminderung des Speichelflusses zu einer Senkung des pH-Wertes im Pansen auf rund pH 5.5 führen, doch tritt ein Abfall des Pansen-pH unter 5.0 erst durch Anhäufung von Milchsäure ein (DIRKSEN, 1965; GIESECKE u. BARTELMUS, 1972). Während sich milchsäurebildende Streptokokken,

wie bereits oben erwähnt, im Pansen sehr schnell vermehren können, bedarf die Adaptation der lactilytischen Bakterienflora eines für 1 bis 2 Wochen auf Werte von 2 bis 3 mM erhöhten Milchsäurespiegels (BRÜGGE-MANN u. GIESECKE, 1968 b). Ein rascher Milchsäureanstieg behindert offensichtlich die rechtzeitige Vermehrung dieser Bakteriengruppe.

Die akute Verlaufsform der Pansenacidose und ihre klinischen Folgen werden unter verschiedenen Aspekten dargestellt (DUNLOP u. HAMMOND, 1965; DIRKSEN, 1970; DUNLOP, 1970). Die auf das 100 - 1000fache der Normalwerte erhöhte Milchsäurekonzentration im Pansen erniedrigt den pH-Wert bis gegen pH 4 und führt zur Zerstörung der funktionellen Pansenflora sowie zur subepithelialen Ödematisierung und Ablösung des Pansenepithels. Zu den klinischen Folgeerscheinungen gehört insbesondere die Lactacidämie und metabolische Acidose, bei welcher D-Milchsäure wegen geringerer Umsetzbarkeit im Stoffwechsel eine besondere Rolle zu spielen scheint.

Die gegenüber dem physiologischen L-Isomer verlangsamte Metabolisierung der D-Milchsäure läßt sich einmal darauf zurückführen, daß die von TUBBS (1964) isolierte und für die Oxydation von D-Milchsäure zu Pyruvat verantwortliche D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase, als mitochondriales Enzym für das Substrat weniger zugänglich ist als L-Lactatdehydrogenase im Cytosol für L-Milchsäure. Zum anderen geht aus Messungen an isolierten Enzymen hervor (CAMMACK, 1969), daß D-2-Hydroxysäuren-Dehydrogenase in Organen (Leber, Niere) von Wiederkäuern eine geringere Aktivität aufweist als bei manchen monogastrischen Tierarten (Kaninchen, Ratte).

DUNLOP und HAMMOND (1965) haben für die durch D-Milchsäure ausgelöste metabolische Acidose die Bezeichnung "D-Milchsäure-Acidose" (D-lactic acidosis) vorgeschlagen und diese Erkrankung auf die atypische Fermentation

von leicht vergärbaren Kohlenhydraten im Pansen zurückgeführt. Unter solchen Voraussetzungen kann der Anteil der D-Milchsäure gegenüber dem L-Isomer im Pansen des Rindes von 1D : 2.5L bis 1.2D : 1L zunehmen (DUNLOP u. HAMMOND, 1965). Aus Untersuchungen an Schafen liegen Angaben von 1D : 1L bis 6D : 1L vor (C.S.I.R.O.1949-59), nach Messungen in vitro von 1D : 50L bis 5D : 1L (RYAN, 1964). In Anbetracht der gleichartigen Resorption beider Isomere (MACKENZIE, 1967) können solche Bedingungen sehr schnell zu einer Überschwemmung des Organismus mit dem schwerer metabolisierbaren D-Isomer führen.

1.4 Problemstellung

Ein zentrales Problem, welches sich durch alle bisherigen Untersuchungen zieht, ist analytischer Natur: Die zur Bestimmung der D-Milchsäure angewendeten Methoden sind entweder spezifisch aber unempfindlich (Polarimetrie) oder empfindlich aber unspezifisch, wie die am häufigsten geübte Differenzermittlung von kolorimetrisch bestimmter DL- und enzymatisch gemessener L-Milchsäure. Da selbst das optimale kolorimetrische Verfahren von BARKER & SUMMERSON (BARKER, 1957) u. a. auch mit Acetaldehyd, Methylglyoxal, Pyruvat, Glycerinaldehyd u. a. Verbindungen, die zum Teil aus Kohlenhydraten entstehen bzw. im Pansen vorkommen können, Farbrektionen liefert, kann die Differenzmethode zu einer erheblichen Überschätzung des D-Isomers führen.

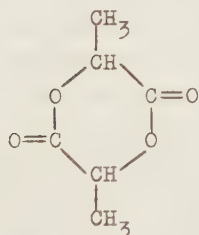
Intra- und intermolekulare Bindungen der Milchsäure werfen besondere Probleme auf, wenn konzentrierte Handelspräparate oder daraus hergestellte Lösungen für Tierversuche oder medizinische Zwecke Verwendung finden. In aller Regel wird davon ausgegangen, daß solche racemische Milchsäure ein etwa gleichteiliges Isomerenverhältnis aufweist. Allerdings werden bei Handelspräparaten

keine Isomeren-Anteile angegeben, und BRIN (1965) hat in einer Übersicht darauf hingewiesen, daß selbst in Fachverzeichnissen wie Merck Index, United States Pharmacopoeia, British Pharmacopoeia oder International Pharmacopoeia weder die Existenz noch das Verhältnis von Isomeren ausgewiesen ist. Tatsächlich können in konzentrierten Lösungen über die Bildung einer Äthylenoxyd-Form nach

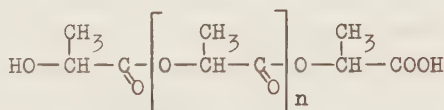


Unterschiede der spezifischen Drehung bei verschiedenen Konzentrationen (BANCROFT u. DAVIS, 1931) auftreten, die zumindest eine eindeutige Beschreibung des verwendeten Präparates durch den Benutzer und damit auch Schlußfolgerungen hinsichtlich des Stoffwechsels erschweren.

Abhängig von der Konzentration bildet Milchsäure außerdem durch intermolekulare Veresterungen ein zyklisches Dimer (a) oder lineare Polymere (b).



a) Dilactid



b) Polylactat

In der üblichen Handelsmilchsäure (85-90%ig) liegen 18 % als Polymere vor, die bei der Verdünnung auf eine 20 %ige Lösung erst im Laufe von Wochen hydrolysieren (HOLTEN, 1971). Dieser Umstand erschwert ebenfalls eine genaue Beschreibung des verwendeten Präparates und kann insofern zu erheblichen Stoffwechselproblemen führen, als

über die Metabolisierbarkeit von Polymeren im Stoffwechsel nichts bekannt ist und eine erhöhte Ausscheidung im Harn naheliegend erscheint. Bei Versuchen mit Milchsäure an Wiederkäuern (HUETER, SHAW u. DOETSCH, 1956; WALDO u. SCHULTZ, 1960; TELLE u. PRESTON, 1971 u.a.) blieb dieser Gesichtspunkt unberücksichtigt.

Aus dem vorliegenden Schrifttum geht hervor, daß trotz recht umfassender Kenntnisse über den Milchsäurestoffwechsel im Pansen das Wissen über den Anteil und das Schicksal des D-Isomers durchaus mangelhaft ist. Insbesondere fehlen Informationen über die physiologische Rolle, weil die bisherigen Versuche (DUNLOP u. HAMMOND, 1965; RYAN, 1964 u.a.) ausschließlich unter pathologischen Bedingungen mit teils so starken Überladungen des Pansens mit leicht vergärbaren Kohlenhydraten durchgeführt wurden, wie sie die Tiere kaum verzehrt hätten.

In den eigenen Versuchen konnte erstmals eine direkte enzymatische Bestimmungsmethode von D-Milchsäure angewendet werden. Damit eröffnete sich die willkommene Möglichkeit, den zeitlichen Konzentrationsverlauf des D-Isomers im Pansen nach Verabreichung von Handelsmilchsäure, verschiedenen Zuckern und Stärke zu messen, um daraus ein Bild über die physiologische Rolle dieses "unphysiologischen" Isomers zu gewinnen. Um zugleich Aussagen über die Verlässlichkeit früher durchgeführter Experimente zu erhalten, wurden in fast allen Versuchen auch DL- und L-Milchsäure für eine Differenzermittlung gemessen. Ergänzende Bestimmungen der Milchsäurekonzentrationen in Blut und Harn sollten schließlich Aufschluß über die Höhe der Stoffwechselbelastung bzw. über die Metabolisierbarkeit der resorbierten Milchsäure aus dem Pansen geben.

2.0 MATERIAL UND METHODEN

Von der Problemstellung her kamen für die Tierversuche nur Wiederkäuer mit Pansenkanülen in Betracht; aus Kosten- und Platzgründen wurden hierfür 4 Schafe verwendet, welche in 3 verschiedenen Versuchsreihen intraruminale Infusionen von DL-Milchsäure und von verschiedenen Zuckern sowie in einem Überfütterungsversuch eine Mais-Heu-Ration erhielten. Zwischen den Einzelinfusionen lag in der Regel ein Zeitraum von 2 oder mehr Wochen, der eine gegenseitige Beeinflussung ausschloß.

2.1 Versuchstiere, Haltung und Fütterung

Als Versuchstiere wurden 4 ausgewachsene männliche Kastraten der Merinolandschafrasse mit 60 - 90 kg Lebendgewicht in Einzelboxen mit Stroheinstreu gehalten. Wasser und Salzleckmasse standen immer zur Verfügung. In der versuchsfreien Zeit erhielten die Tiere zweimal täglich Wiesenheu guter Qualität (28-30 % Rohfaser und 10-11.4 % Rohprotein in der Trockenmasse). An Versuchstagen mit intraruminaler Infusion von Milchsäure und Zuckern wurde die Morgenfütterung bis zum Abschluß der Probenentnahmen ausgesetzt.

In einem Überfütterungsversuch erfolgte nach einer 7tägigen Vorperiode mit Verabreichung von Wiesenheu (Qualität wie oben, Verzehr ca. 1600 g/d) eine plötzliche Futterumstellung auf eine Mais-Heu-Ration (1200 g gebrochener Mais + 400 g Heu), die morgens um 8.00 und nachmittags um 16.00 Uhr zu gleichen Teilen vorgelegt wurde. Im Stadium der Futterverweigerung nicht aufgenommene Maisreste erhielten die Tiere durch die Pansenfistel zugeführt.

2.2 Intraruminale Infusionen

Intraruminale Infusionen von Milchsäure- oder Zuckerlösungen erfolgten bei nüchternen Tieren zur Zeit der Morgenfütterung. Die Infusionen wurden mittels eines im Endstück mehrfach perforierten Schlauches innerhalb 2 - 3 Minuten durch die Pansenfistel verabreicht. Die infundierten Lösungen enthielten die jeweiligen Substanzen in einem Volumen von 500 ml körperwarmem Leitungswasser. In dieser Form wurden infundiert:

DL-Milchsäurelösung, 1 Mol / 500 ml (= 90 g, DAB 6, Merck, Darmstadt):

Das als 90 %ige Milchsäure bezogene Präparat enthielt nach eigenen Analysen 88.4 % DL-Milchsäure (n. BARKER u. SUMMERSON, siehe unten) und auf 100 % bezogen nach enzymatischer Bestimmung 64.2 % L- und 5 % D-Milchsäure (s.u.). Kochen am Rückfluß in ca. 30 %iger Lösung für 75 min ergab Isomeren-Anteile von 79.9 % L und 5 % D. Hitzedepolymerisation in Gegenwart von 15 % o-Phosphorsäure verbesserte das Resultat auf 87.6 % L und 6 % D und somit von 69.2 % auf 93.6 % enzymatisch verfügbare Milchsäure.

Um die zusätzliche Belastung mit Phosphorsäure auszuschließen, wurde für die Infusion eine durch Kochen am Rückfluß depolymerisierte Lösung mit 79.9 % L- und 5 % D-Isomer entsprechend verdünnt, mit KOH-Lösung auf pH 5.5 teilneutralisiert und auf eine Konzentration von ca. 2 M eingestellt.

Zuckerlösungen mit Glucose, Fructose oder Saccharose (alle puriss. Merck, Darmstadt):

Unter Zugrundelegung einer Nominaldosis von 0.5 M Glucose pro 65 kg Körpergewicht wurden nach den jeweiligen Körpergewichten der einzelnen Tiere die in Tabelle 3 aufgeführten Mengen verabreicht.

Tabelle 3

Übersicht zur Verabreichung von Zuckern durch intraruminale Infusion

Zucker	M	(g/kg)	K	Versuchstiere		
				M	Q	R
Glucose	0.5	(1.4)	120	82	92	80
Fructose	0.5	(1.4)	120	82	92	81
Saccharose	0.25	(1.4)	125	85	98	85
Saccharose	0.375	(2.1)	198	128	145	126
Saccharose	0.5	(2.8)	255	164 *	229	170

*) Schaf M durch Schaf S ersetzt

2.3 Entnahme von Proben, pH-Messung und Konservierung

Häufigkeit und zeitliche Abfolge der Probengewinnung richteten sich nach der jeweiligen Versuchsdurchführung, nach physiologischen Gegebenheiten sowie nach Erfahrungswerten und sind im Zusammenhang mit den Ergebnissen angeführt.

2.3.1 Pansenflüssigkeit

Die Entnahme erfolgte durch die Pansenkanüle mittels eines mehrfach perforierten PVC-Schlauches mit aufgesetzter Ansaugflasche in Mengen von 150 - 200 ml. Nach Durchmischung und Messung des pH-Wertes (s.u.) wurden 5 ml Probe mit 5 ml 0.6 N Perchlorsäure fixiert und die restliche Pansenflüssigkeit wieder zurückgegeben.

2.3.2 Blutproben

Sofort nach Entnahme aus der Vena jugularis - in der Regel durch Punktion - erfolgte eine rasche Durchmischung von 5 ml Blut mit 5 ml 0.6 N Perchlorsäure.

2.3.3 Harnproben

Mittels eines unter der Präputialöffnung befestigten Polyäthylenbechers wurden Harnproben nach den einzelnen Miktionen gesammelt und nach pH-Messung jeweils mit gleichen Teilen 0.6 N Perchlorsäure fixiert.

2.3.4 pH-Messung

Die Messung der Wasserstoff-Ionenkonzentration in Pansenflüssigkeits- und Harnproben erfolgte unmittelbar nach der Gewinnung im Stall mittels eines pH-Meters mit Netzanschluß (WTW, Weilheim), das mit einer Glas-Kalomel-Einstabmeßkette (INGOLD, Frankfurt) ausgerüstet war. Die Eichung der Elektrode gegen einen pH-Standard erfolgte an jedem Versuchstag neu.

2.3.5 Konservierung der Proben

Die mit 0.6 N Perchlorsäure behandelten Proben wurden im Labor durch Zentrifugieren (10 min bei 3000 U/min) geklärt und die klaren Überstände bis zur Milchsäurebestimmung bei -15 bis -18 °C eingefroren.

2.4 Analytische Methoden

Alle zur Bestimmung von Milchsäure verwendeten Lösungen einschließlich der 0.6 N Perchlorsäure zur Fixierung der Proben wurden mit Aqua tridest. angesetzt. Zur Reinigung der Probenröhrchen und Pipetten sowie anderer analytischer Glasgeräte diente Schwefelsäure-Dichromat, gefolgt von mehrfachen Spülungen mit Leitungswasser, Aqua dest. und Aqua tridest..

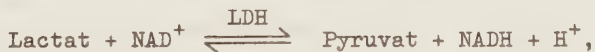
2.4.1 Kolorimetrische Bestimmung von DL-Milchsäure

Die hier angewendete Original-Methode von BARKER u. SUMMERSON (BARKER, 1957) geht von einer Behandlung der enteweißten Probe mit Kupfersulfatlösung und Calciumoxyd aus, womit störende Zucker und Phosphate beseitigt werden. Die Milchsäure im klaren Filtrat wird anschließend mit konzentrierter Schwefelsäure ($d=1.84$) zu Acetaldehyd oxydiert, der mit alkalischer p-Hydroxydiphenyllösung einen violetten Farbkomplex liefert. Nach Zerstörung von überschüssigem p-Hydroxydiphenyl durch kurzes Erhitzen im siedenden Wasserbad wird die Farbintensität durch Extinktionsmessung bei 560 nm im Photometer (Eppendorf) gegen konzentrierte H_2SO_4 gemessen.

Die Messung der Farbintensität in den eigenen Untersuchungen folgte bis zu einer Konzentration von 12 $\mu g/ml$ dem Beer'schen Gesetz. Zur Berechnung wurden mit Li-Lactat (CALBIOCHEM, Luzern) erstellte Standardlösungen mit 2, 5 und 8 μg Milchsäure / ml mitgeführt. Die hohe Empfindlichkeit der Methode bedingte eine besondere Störanfälligkeit gegen Verunreinigungen von Gläsern und Pipetten (Milchsäure der Hautoberfläche !) und erforderte eine längere Einübungszeit.

2.4.2 Enzymatische Bestimmung von L(+)- und D(-)-Milchsäure

Bei der enzymatischen Bestimmung mit NAD-abhängiger Lactatdehydrogenase (LDH) gilt im Prinzip für beide Isomere



wobei jeweils die für das zu bestimmende Isomer spezifische LDH eingesetzt und Pyruvat sowie Protonen durch Hydrazonbildung bzw. alkalisches Medium (Puffer) aus dem Reaktionsgleichgewicht beseitigt werden. Das gebildete NADH ist der umgesetzten Lactatmenge proportional und

wird durch Extinktionsmessung bei 366 nm bestimmt. Der Meßbereich liegt bei einer Extinktionsdifferenz (ΔE) von 0.05 - 0.520 entsprechend etwa 60 - 600 μg Milchsäure / ml. Die Bestimmung beider Milchsäureisomere folgte der Methode von HOHORST (1962) in der Durchführungsvorschrift von BOEHRINGER (1969) mit folgenden Reagenzien:

- a) Glycin-Hydrazin-Puffer pH 9.0: 0.5 M Glycin, 0.4 M Hydrazinsulfat, 0.4 M Titriplex III (MERCK)
- b) L(+)LDH (E.C.I.I.I.27) aus Schweinemuskel (BOEHRINGER)
- c) D(-)LDH (E.C.I.I.I.28) aus *Lactobacillus leichmannii* (BOEHRINGER)*
- d) β -NAD (BOEHRINGER) 0.027
- e) Standard-Lösungen:
 - D(-)Milchsäure, Li-Salz (CALBIOCHEM, Luzern)
9 μg / 0.1 ml
 - L(+)Milchsäure, Na-Salz (ROTH, Karlsruhe)
9 μg / 0.1 ml

Die Messungen wurden nach einstündiger Inkubation entsprechender Test- und Vergleichsansätze bei 25 °C im Photometer Eppendorf bei 366 nm gegen Luft vorgenommen.

Teilweise enthielten die aus Pansenflüssigkeit und Harn gewonnenen Proben in wechselndem Maße nicht näher identifizierte Verbindungen, die bei der photometrischen Messung unspezifische Absorptionen bewirkten. Soweit diese auf Farbstoffen beruhten, blieben Reinigungsgänge über Säulen mit Cellulose oder Kieselgel erfolglos. Behandlung mit Aktivkohle beseitigte zwar die Störfaktoren

*) Das Enzym war zu Beginn der Untersuchungen nicht im Handel. Für die Überlassung eines Präparates wird dem Werk Tutzing der Fa. BOEHRINGER Mannheim bestens gedankt.

aber auch einen Teil der Milchsäure. Demzufolge wurden die photometrischen Messungen gegen Vergleichsküvetten durchgeführt, welche die gleiche Probe wie der jeweilige Bestimmungsansatz aber ohne Zusatz von p-Hydroxydiphenyl bzw. LDH enthielt.

2.5 Auswertung und statistische Methoden

Die Ergebnisse sind mit wenigen Ausnahmen als Mittelwerte und Streuungen ($\bar{x} \pm s$) von 4 Versuchstieren in Abhängigkeit von der Zeit nach Applikation angegeben. Unterschiede zwischen Stichproben von denselben Tieren bei verschiedenartiger Behandlung wurden mittels des WILCOXON-Tests für Paardifferenzen (SACHS, 1972) auf Zufallswahrscheinlichkeit geprüft. Die Berechnung von linearen Regressionen sowie Korrelationskoeffizienten und die Prüfung der letzteren auf Zufallswahrscheinlichkeit mittels des abgewandelten t-Tests nach FISHER erfolgten ebenfalls nach den von SACHS (1972) angegebenen Methoden.

3.0 ERGEBNISSE

3.1 Milchsäure in Pansenflüssigkeit, Blut und Harn nach intraruminaler Milchsäureinfusion

In einem ersten Versuch wurde bei 3 Tieren je 1 Mol DL-Milchsäure per fistulam eingegeben. Dabei sollte die Verweildauer der Milchsäure in der Pansenflüssigkeit sowie ihr Übertritt in das Blut und den Harn verfolgt werden. Eine intraruminale Isomerisierung hätte sich zudem durch einen zunehmenden Anteil des D-Isomers zu erkennen gegeben.

Wie aus den in Tabelle 4 angegebenen Werten ersichtlich ist, lagen vor Infusionsbeginn kaum nachweisbare Anfangskonzentrationen vor. Eine Stunde danach wurde ein durchschnittlicher Höchstwert von $67 \mu\text{M}$ DL-Milchsäure / ml erreicht, der sich in den folgenden Stunden angenähert exponentiell verminderte. Parallel zu den kolorimetrisch bestimmten Gesamtlactatkonzentrationen verhielt sich das enzymatisch ermittelte L-Isomer. Sein prozentualer Anteil schwankte während der Versuchsdauer zwischen 75 % und 87 % für Schaf K und 67 % bis 85 % für die beiden anderen Tiere. Auf Grund des engen Verhältnisses von Gesamt-Lactat zu L-Lactat wurde auf die enzymatische Bestimmung des D-Milchsäureanteils verzichtet. Im übrigen traten zwischen den Versuchstieren keine auffälligen Unterschiede zutage.

Die in Blut und Harn gemessenen Milchsäurekonzentrationen sind in den Tabellen 5 und 6 wiedergegeben. Die vor der Infusion festgestellte Milchsäurekonzentration im Blut war mit durchschnittlich $0.8 \mu\text{M}$ / ml physiologisch normal und lag 6 - 10mal höher als im Pansen. Bei Versuchstier K war der Lactatspiegel im Blut nach 2 Stunden mit $1.6 \mu\text{M}$ / ml fast auf das Doppelte angestiegen und sank bis Versuchsende nicht mehr unter $1.2 \mu\text{M}$ / ml, während

Tabelle 4

Konzentrationen von DL- und L-Milchsäure in der Pansenflüssigkeit nach intraruminaler Infusion von 1 M teilneutralisierter DL-Milchsäure

Schafe	Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$)	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)				
		0	60	120	180	240
K		0.09	66.6	26.4	14.2	8.0
Q	DL	0.1	73.0	24.4	12.4	10.2
R		0.1	62.0	26.0	17.3	10.0
K		-	58.0	20.0	11.0	6.5
Q	L	-	50.0	19.5	9.7	8.1
R		-	42.0	18.0	13.3	9.1

Tabelle 5

Konzentrationen von DL- und L-Milchsäure im Blut nach intraruminaler Infusion von 1 M teilneutralisierter DL-Milchsäure

Schaf	Milchsäure (μ M/ml)	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)			
		0	120	240	360
K	DL	0.9	1.6	1.2	1.2
Q		0.7	0.8	0.9	0.7
R		0.7	0.7	0.7	0.7
K	L	0.9	1.4	1.1	1.1
Q		0.6	0.6	0.7	0.5
R		0.6	0.7	0.6	0.7

Tabelle 6

Konzentrationen von DL- und L-Milchsäure im Harn nach intraruminaler Infusion von 1 M teilneutralisierter DL-Milchsäure

Schaf	Milchsäure (μ M/ml)	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)				
		0	120	180	300	360
K	DL	0.6	4.0	1.9	2.0	1.3
Q		0.7	5.5	2.6	-	0.7
R		3.2	9.1	4.7	-	1.6
K	L	0.2	4.1	1.8	1.8	1.2
Q		0.1	4.9	2.0	-	0.8
R		3.6	8.2	2.9	-	1.3

bei Schaf Q nur ein geringgradiger Anstieg von 0.7 auf 0.9 μM / ml nach 4 Stunden und bei Schaf R überhaupt kein Einfluß auf den Blutlactatspiegel zu verzeichnen war.

Hinsichtlich der Milchsäureausscheidung im Harn ergaben sich offenbar deutliche individuelle Unterschiede. Bereits vor Infusionsbeginn waren auffällige Milchsäurekonzentrationen vorhanden, die bei den Tieren K und Q - nach Differenzermittlung - hauptsächlich in der D-Form vorlagen, bei Schaf R hingegen in der L-Form in rund 5fach höherer Gesamtkonzentration. Die intraruminale Infusion führte bei allen Tieren binnen 2 Stunden zu einem deutlichen Anstieg der Milchsäure-Ausscheidung im Harn. Ein ähnlich hoher Maximalwert wie bei Schaf R wurde auch bei einem weiteren Tier M gefunden, das aber aus versuchstechnischen Gründen nicht voll durch die Probenahmen mitgeführt werden konnte. Bei allen Tieren dominierte nach der Infusion deutlich die L-Milchsäure, und im ganzen folgte die Ausscheidung im Harn den mit fortschreitender Versuchszeit abfallenden Milchsäurekonzentrationen im Pansen.

Um eine quantitative Wertung zu ermöglichen, wurden die in der 6stündigen Versuchszeit ausgeschiedenen Harn- und Milchsäuremengen ermittelt. Für Schaf K ergaben sich dabei 817 ml Harn mit insgesamt 1.85 mM, für Schaf R 835 ml mit 2.62 mM und für Schaf M 634 ml mit 2.76 mM DL-Milchsäure. Von Schaf Q wurden die Harnmengen nicht quantitativ erhalten. Trotz des deutlich sichtbaren Einflusses der Milchsäure-Infusion auf die Konzentrationen im Harn ergab sich auf Grund dieser Messungen, daß von 1000 mM verabreichter Dosis nur rund 1.9 - 2.8 mM - oder 0.19 - 0.28% - über den Harn eliminiert wurden. Mehr als 99 % D- und L-Milchsäure dürften damit metabolisiert worden sein. Der geringe Anteil von D-Milchsäure im verabreichten Racemat hat zu diesem hohen Umsatz sicherlich beigetragen.

Tabelle 7

pH-Werte in Pansen und Harn von 4 Schafen nach intraruminaler Infusion von 1 M teilneutralisierter DL-Milchsäure

	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)					
	0	60	120	180	240	360
pH im	6.44	6.42	6.46	6.58	6.45	6.50
Pansen	± 0.25	± 0.16	± 0.20	± 0.22	± 0.14	± 0.14
pH im	8.14	-	8.14	8.32	-	8.45
Harn	± 0.42	-	± 0.07	± 0.05	-	± 0.10

In Tabelle 7 sind die mittleren pH-Werte in Pansenflüssigkeit und Harn aufgeführt. Sie lassen erkennen, daß die Infusion von teilneutralisierter DL-Milchsäure keine Abweichungen von physiologischen Normalwerten mit sich brachte.

3.2 Einfluß intraruminaler Zuckerinfusionen auf Milchsäure-Isomere und pH-Werte

Wie einführend aufgezeigt wurde, ist die Milchsäurebildung im Pansen hauptsächlich auf die schnelle Fermentation von Zuckern zurückzuführen. Durch intraruminale Zuckerinfusionen sollte geklärt werden, inwieweit bereits unter physiologischen pH-Verhältnissen D-Milchsäure auftritt, wie das Isomeren-Verhältnis von Art und Menge der Zucker beeinflußt wird und in welcher Weise sich sekundäre Einflüsse auf Milchsäure-Isomere in Blut und Harn ergeben. Wegen ihres besonders häufigen Vorkommens in Futterpflanzen und industriellen Futtermitteln wurden die Monosaccharide Glucose und Fructose sowie das Disaccharid Saccharose - letztere in verschiedenen Konzentrationen - verwendet. Bei der Dosierung wurde besonderer Wert darauf gelegt, die physiologische Grenze der noch kompensierbaren Acidität im Pansen (etwa pH 5.5) nicht zu überschreiten.

3.2.1 Milchsäure-Isomere in der Pansenflüssigkeit nach Infusion von Glucose und Fructose

Die nach Verabreichung dieser Monosaccharide in Mengen von 0.5 M erhaltenen Ergebnisse sind in den Tabellen 8 und 9 sowie in den Abbildungen 1 und 2 zusammengefaßt dargestellt.

Wie ersichtlich, führte die Infusion von Glucose (vgl. Tab. 8, Abb. 1) bereits innerhalb 15 - 30 min zu einem abrupten Anstieg der DL-Milchsäurekonzentration in der Pansenflüssigkeit mit Erniedrigung des pH-Wertes um rund

Tabelle 8

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit
nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Glucose (n=4)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)						
	0	15	30	60	90	120	180
DL	0.11 $\pm$ 0.02	16.6 $\pm$ 4.5	17.3 $\pm$ 3.9	12.7 $\pm$ 5.5	8.6 $\pm$ 3.6	4.9 $\pm$ 3.7	3.2 $\pm$ 2.4
L	-	5.0 $\pm$ 3.1	3.9 $\pm$ 1.8	3.7 $\pm$ 1.1	3.0 $\pm$ 2.1	2.1 $\pm$ 1.2	1.4 $\pm$ 1.2
D	-	10.4 $\pm$ 2.8	10.7 $\pm$ 1.6	6.7 $\pm$ 3.0	4.5 $\pm$ 2.2	3.4 $\pm$ 3.3	2.1 $\pm$ 1.4
Summe L+D	-	15.5	14.6	10.4	7.5	5.5	3.5
pH	6.44 $\pm$ 0.12	6.02 $\pm$ 0.15	5.92 $\pm$ 0.24	5.89 $\pm$ 0.08	5.88 $\pm$ 0.11	5.98 $\pm$ 0.16	6.09 $\pm$ 0.19

Tabelle 9

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit
nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Fructose (n=4)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)						
	0	15	30	60	90	120	180
DL	-	16.3 ± 3.7	16.9 ± 4.6	13.8 ± 6.7	9.2 ± 6.4	7.6 ± 6.3	4.2 ± 4.5
L	-	7.6 ± 5.4	8.1 ± 5.4	7.5 ± 6.4	5.8 ± 5.6	5.6 ± 5.6	2.8 ± 3.4
D	-	6.8 ± 2.6	7.5 ± 2.2	5.3 ± 2.4	3.6 ± 0.8	2.8 ± 2.1	1.6 ± 1.4
Summe L+D	-	14.4	15.6	12.8	9.4	8.4	4.4
pH	6.61 ± 0.17	6.20 ± 0.20	6.10 ± 0.17	6.12 ± 0.16	6.15 ± 0.18	6.34 ± 0.15	6.34 ± 0.26

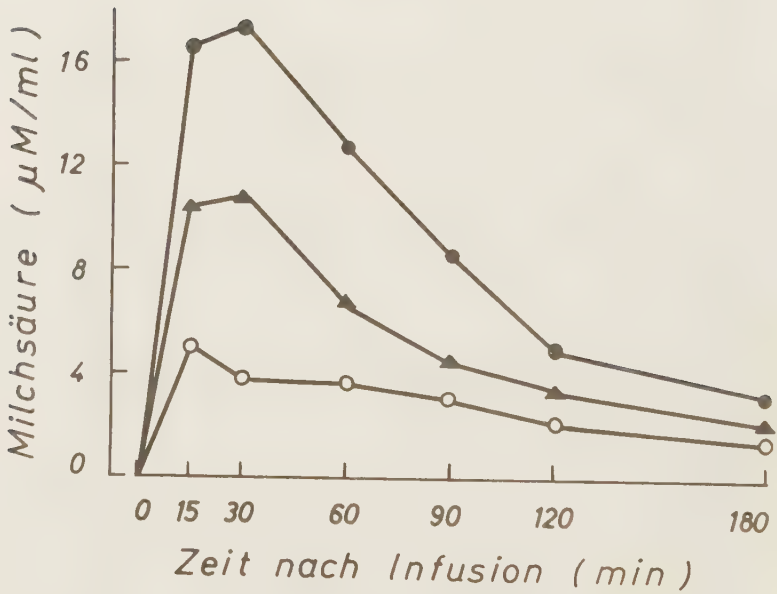


Abb. 1 Verlauf der Milchsäurekonzentration im Pansen nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Glucose
(Mittelwerte aus Tab. 8; DL ●, D ▲, L ○)

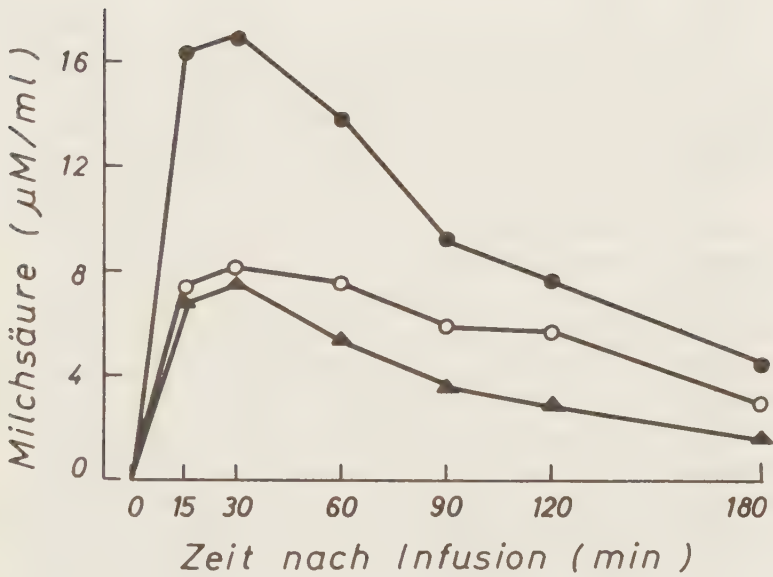


Abb. 2 Verlauf der Milchsäurekonzentration im Pansen nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Fructose
(Mittelwerte aus Tab. 9; DL ●, D ▲, L ○)

0.5 Einheiten auf pH 5.9. Innerhalb weiterer 60 min sank die Milchsäurekonzentration etwa auf die Hälfte des Maximumspiegels, um sich von da an verlangsamt aber stetig zu verringern. Dabei kam es erst 3 h nach Infusionsbeginn zu einem Wiederanstieg des pH-Wertes im Pansen.

Was die Isomere betrifft, so hatte D-Milchsäure, insbesondere innerhalb der 1. Stunde, mit rund 60 - 70 % ein auffälliges Übergewicht und schien - wohl auf Grund der erhöhten Konzentration - besonders schnell aus dem Pansen beseitigt zu werden. Im übrigen traten zwischen der Summe der enzymatisch bestimmten L- und D-Milchsäure und der kolorimetrisch gemessenen racemischen Milchsäure gewisse Differenzen auf, die später in anderem Zusammenhang erörtert werden sollen.

Die Infusion von Fructose (vgl. Tab. 9, Abb. 2) bewirkte einen nahezu identischen Anstieg und gleichlaufenden Abfall der DL-Milchsäurekonzentration in der Pansenflüssigkeit wie nach Glucoseinfusion. Auch die Summe der getrennt bestimmten Isomere verhielt sich ähnlich. Der pH-Wert schien weniger stark abzusinken, doch war der Anfangs-pH vor Infusion 0.17 Einheiten höher. Deutliche Unterschiede gegenüber dem Glucoseversuch ergaben sich in der Konzentration der Milchsäure-Isomere: L-Milchsäure fiel hier höher und D-Milchsäure niedriger aus, so daß letztere in der 1. Stunde nach Infusion einen durchschnittlichen Anteil von 40 - 50 % hatte.

Zur statistischen Prüfung mittels des WILCOXON-Tests für Paardifferenzen wurden einmal die während 15 - 90 min nach Glucose- und Fructoseinfusion erhaltenen Konzentrationen von D-Milchsäure gegenübergestellt (n=15 Paare), zum anderen die entsprechenden Wertepaare für L-Milchsäure.

Wie sich daraus für D-Milchsäure ergab, war nach Infusion äquivalenter Mengen Glucose und Fructose in den Pansen keine signifikante Differenz nachzuweisen.

Unter den gleichen Bedingungen war die höhere Konzentration von L-Milchsäure nach Infusion von Fructose gegenüber Glucose statistisch gut zu sichern ($p < 0.01$).

3.2.2 Milchsäure-Isomere in der Pansenflüssigkeit nach Infusion von Saccharose

Das Disaccharid Saccharose wurde in Mengen von 0.25, 0.375 und 0.50 M in den Pansen infundiert. Das entsprach in Gewichtseinheiten der gleichen, 1 1/2fachen und 2fachen Dosis der Monosaccharid-Infusionen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 10 - 12 und in den Abbildungen 3 und 4 zusammengefaßt.

Die Konzentrationen von DL-Milchsäure in der Pansenflüssigkeit ergab nur nach Infusion von 0.25 M Saccharose einen steilen Anstieg (vgl. Abb. 3), der bis $17 \mu\text{M} / \text{ml}$ wie bei Monosacchariden verlief, aber einen höheren Spitzenwert erreichte und steiler abfiel. Bei Infusion von 0.375 und 0.50 M Saccharose fehlte der steile Gipfel und die Kurve fiel erst wesentlich später ab. Es erscheint naheliegend, daß bei höherer Dosierung die Konzentrationsspitzen durch gesteigerte Resorption eliminiert werden.

Aus den Tabellen 10, 11 und 12 sind die bei den einzelnen Infusionen ermittelten Durchschnittswerte von 4 Tieren ersichtlich. Auf Grund der zu erwartenden geringen Konzentrationen im Pansen, wurden nach Infusion der 0.25 und 0.375 M Lösungen die Isomeren nur stichprobenartig bestimmt. Dabei wurde ein unterschiedliches Isomerenverhältnis erkennbar. Während intraruminale Infusionen von 0.25 M Saccharose 45.5 % D-Lactat ergaben, überwog bei den Versuchen mit 0.375 M Saccharose das D-Isomer mit 64.3 %. Die pH-Werte in beiden Versuchsreihen verhielten sich weitgehend gleich und konnten mit dem unterschiedlichen Isomeren-Verhältnis darum kaum in ursächlichem Zusammenhang stehen.

Tabelle 10

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit
nach intraruminaler Infusion von 0.25 M Saccharose (n=4)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)					
	0	15	30	60	90	120
DL	0.2 $\pm$ 0.3	16.8 $\pm$ 11.0	23.0 $\pm$ 3.5	10.2 $\pm$ 5.1	6.9 $\pm$ 2.8	2.4 $\pm$ 1.6
L	0.08 $\pm$ 0.09	-	8.9 $\pm$ 5.3	-	4.1 $\pm$ 1.7	-
D	-	-	9.8 $\pm$ 4.7	-	2.6 $\pm$ 1.5	-
Summe L+D	-	-	18.7	-	6.7	-
pH	6.50 $\pm$ 0.11	6.10 $\pm$ 0.17	5.98 $\pm$ 0.08	6.02 $\pm$ 0.06	6.09 $\pm$ 0.12	6.19 $\pm$ 0.12
						6.12 $\pm$ 0.21

Tabelle 11

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit
nach intraruminaler Infusion von 0.375 M Saccharose (n=4)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)					
	0	15	30	60	90	120
DL	0.03 $\pm$ 0.01	12.7 $\pm$ 6.6	14.7 $\pm$ 6.6	16.8 $\pm$ 6.1	14.4 $\pm$ 4.5	10.9 $\pm$ 1.1
L	0.1	-	4.6 $\pm$ 3.9	-	5.0 $\pm$ 3.6	-
D	0.1	-	9.4 $\pm$ 3.3	-	8.6 $\pm$ 1.5	-
Summe L+D	-	-	14.0	-	13.6	-
pH	6.65 $\pm$ 0.08	6.24 $\pm$ 0.13	6.14 $\pm$ 0.08	5.99 $\pm$ 0.07	6.06 $\pm$ 0.19	6.07 $\pm$ 0.25

Tabelle 12

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit
nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Saccharose (n=4)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)					
	0	15	30	60	90	120
DL	0.1 $\pm$ 0.05	10.6 $\pm$ 0.3	11.8 $\pm$ 1.3	12.4 $\pm$ 3.3	12.5 $\pm$ 3.7	10.9 $\pm$ 5.2
L	0.1	6.6 $\pm$ 2.0	7.1 $\pm$ 2.4	7.3 $\pm$ 2.8	6.6 $\pm$ 3.0	6.2 $\pm$ 2.3
D	0.1	3.5 $\pm$ 2.1	4.4 $\pm$ 2.1	5.2 $\pm$ 2.4	5.0 $\pm$ 2.8	4.7 $\pm$ 2.9
Summe L+D	-	10.1	11.5	12.5	11.6	10.9
pH	6.48 $\pm$ 0.22	5.90 $\pm$ 0.19	5.80 $\pm$ 0.22	5.61 $\pm$ 0.13	5.64 $\pm$ 0.16	5.69 $\pm$ 0.20
						8.9
						8.8 $\pm$ 7.0
						5.1 $\pm$ 4.5
						3.8 $\pm$ 3.1
						5.80 $\pm$ 0.34

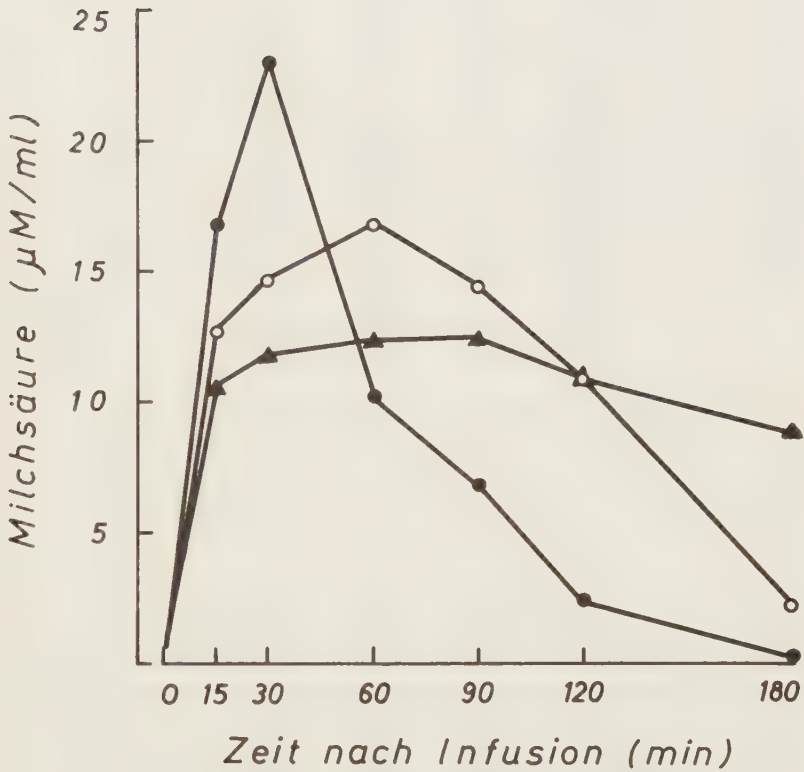


Abb. 3 Verlauf der DL-Milchsäurekonzentration im Pansen nach intraruminaler Infusion von 0.25 M ●, 0.375 M ○ und 0.5 M ▲ Saccharose (Mittelwerte aus Tab. 10-12)

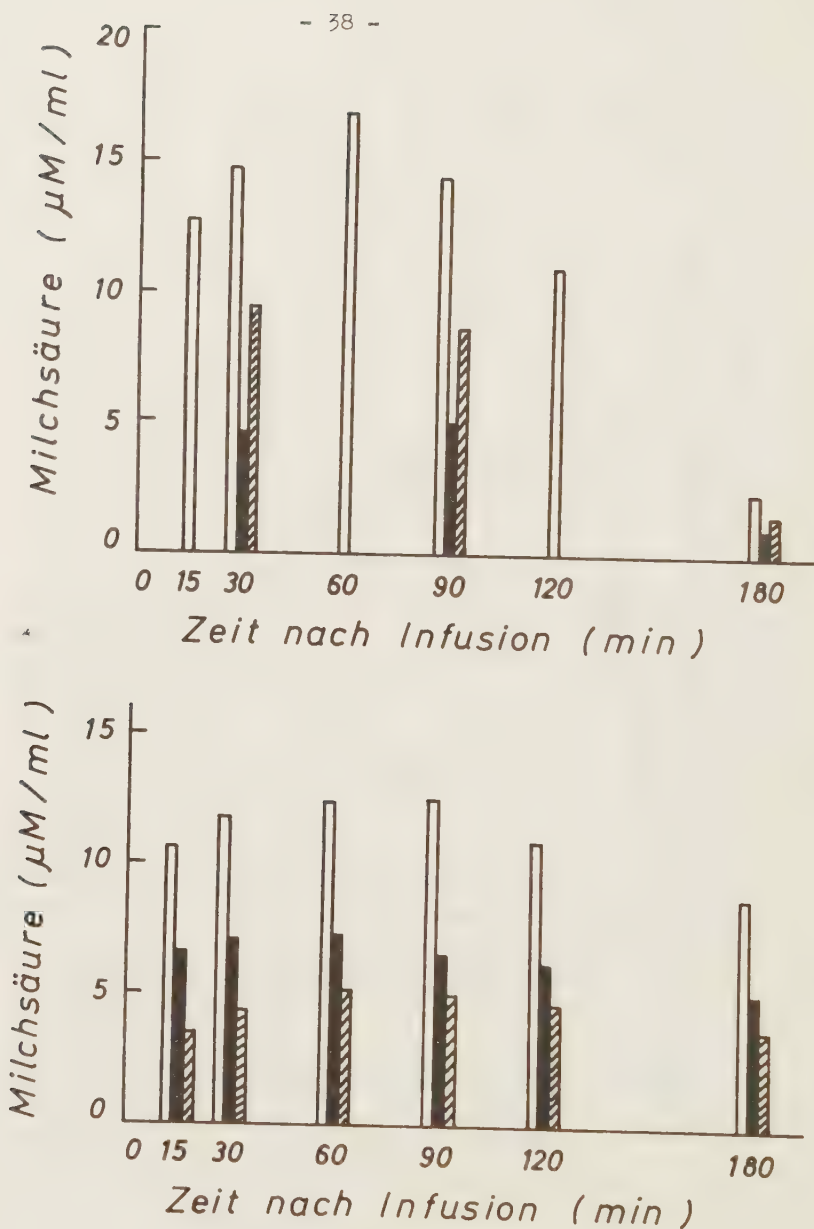


Abb. 4 Milchsäurekonzentration in der Pansenflüssigkeit nach intraruminaler Infusion von 0.375 M (oben) und 0.5 M (unten) Saccharose (Mittelwerte aus Tab. 11 u. 12; DL □, L ■, D ▨)

Bei maximaler Dosis über 3 Stunden von 0.5 M Saccharose (vgl. Tab. 12) resultierte der beständige Milchsäurespiegel von rund 9 - 12 μM / ml in einer Erniedrigung des pH-Wertes um maximal 0.87 Einheiten mit einem wiederum erniedrigten Anteil des D-Isomers von 35 - 45 %. Diese auffälligen Unterschiede zwischen mittleren und hohen Saccharosegaben sind in Abbildung 4 vergleichend gegenübergestellt. Insgesamt machen diese Befunde deutlich, daß das Isomerenverhältnis der Milchsäure im Pansen in wechselndem Maße von der Zuckerdosis beeinflußt werden kann.

3.2.3 Milchsäure-Isomere in Blut und Harn nach Infusion von Saccharose

In den vorgenannten Versuchen wurden, vor allem bei maximaler Saccharosegabe, Stichproben von Blut und Harn gewonnen, um einen möglichen Einfluß der Milchsäureanflutung aus dem Vormagen zu verfolgen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 13 - 15 zusammengefaßt.

Danach ergaben Saccharose-Infusionen von 0.50 M physiologisch normale Blutspiegel von L-Lactat und meßbare Konzentrationen von D-Lactat, welche 13 und 14 mg / l entsprachen und damit an der unteren Bestimmungsgrenze lagen. Unter diesen Bedingungen nahm die Konzentration des D-Isomers im Harn 1 - 3 Stunden nach Infusion auf gut das Doppelte zu und betrug dann 35 % der Gesamtmilchsäure im Harn. Der pH-Wert im Harn schien etwas erniedrigt zu sein, offenbar aber nicht als direkte Folge des Milchsäuregehaltes.

Nach Infusion von 0.25 und 0.375 M Saccharose wurden die Stichproben auf den Harn beschränkt. Dabei ergaben sich (vgl. Tab. 15) teilweise höhere Konzentrationen von L-Milchsäure, aber keine meßbaren D-Lactatgehalte. Außerdem lagen in diesen Stichproben physiologisch normale pH-Werte im Harn vor. Als besonders auffällig ist der größtenteils erhebliche Unterschied zwischen der kolori-

Tabelle 13

Milchsäurekonzentrationen im Blut nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Saccharose (n)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$)	Zeit nach Infusion (min)	
	60	120
L	0.79 ± 0.13 (4)	0.68 ± 0.27 (4)
D	0.14 ± 0.03 (4)	0.16 ± 0.04 (4)
Summe L+D	0.93 -	0.84 -

Tabelle 14

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte im Harn nach intraruminaler Infusion von 0.5 M Saccharose (n)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)	
	0	60-180
L	0.25 ± 0.08 (3)	0.36 ± 0.17 (6)
D	0.08 ± 0.04 (3)	0.19 ± 0.13 (6)
Summe L+D	0.33 -	0.55 -
pH	7.41 ± 0.48 (4)	7.86 ± 0.55 (8)

Tabelle 15

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte im Harn nach intra-ruminaler Infusion von 0.25 M und 0.375 M Saccharose (n)

Milchsäure ($\mu\text{M}/\text{ml}$) und pH	Zeit vor (0) bzw. nach Infusion (min)	
	0	60 - 180
0.250 M Saccharose		
DL	0.85 ± 0.68 (4)	0.70 ± 0.24 (6)
L	0.61 ± 0.81 (3)	0.12 ± 0.04 (5)
D	0.10 - (2)	0.10 - (3)
pH	8.07 ± 0.66 (4)	8.04 ± 0.56 (9)
0.375 M Saccharose		
DL	0.37 ± 0.07 (3)	0.70 ± 0.30 (3)
L	0.10 - (1)	0.12 ± 0.04 (3)
D	0.10 - (1)	0.10 - (3)
pH	8.11 ± 0.01 (3)	7.91 ± 0.26 (4)

metrisch bestimmten DL-Milchsäure und der Summe der enzymatisch gemessenen L- und D-Isomers anzusehen. Hier hätte eine Differenzermittlung von D-Milchsäure zu bemerkenswerten Konzentrationen dieses Isomers geführt.

3.3 Einfluß der Überfütterung mit Stärke auf Milchsäure-Isomere und pH-Werte

Bei "Überfütterung" mit leicht vergärbaren Kohlenhydraten führen oft mäßige Mengen an Stärke oder Getreide zu acidotischen Störungen des Vormagenstoffwechsels, wenn eine vorherige Gewöhnung der Pansenflora unterblieben ist. In den eigenen Experimenten wurden ebenso wie bei Zuckerinfusionen extreme Verhältnisse bewußt vermieden. Vielmehr kam es darauf an, die Konzentration der Milchsäure-Isomere und die pH-Werte im Pansen bei Verabreichung einer normalen Mais-Heururation (3:1) zu verfolgen, die allerdings ohne vorherige Adaptation vorgelegt wurde. Dabei trat nur im Fall von Schaf M eine am 3. Tag nach Futterumstellung (10. Versuchstag) beginnende und bis zur Rückumstellung auf Heururation (15. Tag) anhaltende Verweigerung der Kraftfutteraufnahme ein, die eine Verabreichung des nicht verzehrten Anteils durch die Pansenfistel erforderlich machte. Bei den anderen Tieren kam es am 10. und 11. Versuchstag nur sporadisch bei einzelnen Mahlzeiten (K,R) oder garnicht (Q) zur Verweigerung der Futteraufnahme.

3.3.1 Milchsäure-Isomere und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit

Auf Grund starker individueller Schwankungen sind die Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte im Pansen für jedes Tier einzeln in den Tabellen 16 - 19 sowie in zusammengefaßter Form in Abbildung 5 dargestellt. Bereits am 9. Versuchstag (= 2. Umstellungstag) war bei den Schafen K und M ein deutlicher Anstieg des DL-Milchsäuregehaltes

Tabelle 16

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit von Schaf K bei Fütterung von Heu (1. - 7. und ab 15. Tag) und Mais-Heurration (8. - 14. Tag)

Milchsäure ($\mu\text{Mol/ml}$)	Versuchszeit (d)				
	7	9	10	11	12
					13
					15
Milchsäure in der Pansenflüssigkeit					
DL	<0.1	6.2	140	113	0.6
L	-	6.3	73	65	-
D	-	1.2	62	48	-
Summe L + D	-	7.5	135	113	-
pH-Werte in der Pansenflüssigkeit					
Uhrzeit					
8	6.61	6.02	4.70	5.10	5.00
10	-	5.80	4.90	5.05	5.55
12	6.14	5.80	4.89	5.03	5.90
14	-	5.72	5.22	5.13	5.72
16	6.42	5.82	5.12	5.00	5.73
Mittel	6.39	5.83	4.96	5.06	5.58
					5.63
					5.45

Tabelle 17

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit von Schaf M bei Fütterung von Heu (1. - 7. und ab 15. Tag) und Mais-Heurration (8. - 14. Tag)

Milchsäure ($\mu\text{Mol/ml}$)	Versuchszeit (d)				
	7	9	10	11	12
					13
					15
Milchsäure in der Pansenflüssigkeit					
DL	<0.1	4.3	161	135	124
L	-	4.3	87	81	69
D	-	0.8	66	56	59
Summe	-	5.1	153	137	128
L + D	-				
pH-Werte in der Pansenflüssigkeit					
Uhrzeit					
8	6.82	5.68	4.50	4.89	4.75
10	-	5.31	4.71	4.80	4.91
12	6.29	5.40	4.68	4.82	4.70
14	-	5.20	4.78	4.86	5.15
16	6.42	5.66	4.80	4.95	4.95
Mittel	6.51	5.45	4.69	4.86	4.89
					4.85
					4.78
					4.75
					4.69
					4.75
					4.76
					5.10
					-
					5.65
					-
					5.65
					5.46

Tabelle 18

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit von Schaf Q bei Fütterung von Heu (1. - 7. und ab 15. Tag) und Mais-Heuration (8. - 14. Tag)

Milchsäure ($\mu\text{Mol/ml}$)	Versuchszeit (d)					Milchsäure in der Pansenflüssigkeit	pH-Werte in der Pansenflüssigkeit
	7	9	10	11	12		
DL	< 0.1	< 0.1	13	1.5	1.0	0.1	< 0.1
L	-	-	8	-	7	-	-
D	-	-	4	-	-	-	-
Summe L + D	-	-	12	-	-	-	-
Uhrzeit							
8	6.09	5.93	5.45	5.51	5.48	5.75	5.50
10	-	5.55	5.32	5.43	5.45	5.53	-
12	5.99	5.70	5.40	5.52	5.25	5.55	5.60
14	-	5.61	5.33	5.49	5.65	5.88	-
16	6.00	5.63	5.31	5.30	5.45	5.62	5.88
Mittel	6.01	5.68	5.36	5.45	5.45	5.66	5.66

Tabelle 19

Milchsäurekonzentrationen und pH-Werte in der Pansenflüssigkeit von Schaf R bei Fütterung von Heu (1. - 7. und ab 15. Tag) und Mais-Heurration (8. - 14. Tag)

Milchsäure (μ Mol/ml)	Versuchszeit (d)				
	7	9	10	11	12
					13
					15
Milchsäure in der Pansenflüssigkeit					
DL	< 0.1	0.7	172	118	2.5
L	-	-	102	69	1.8
D	-	-	83	51	1.4
Summe	-	-	185	120	3.2
L + D	-	-	-	-	-
pH-Werte in der Pansenflüssigkeit					
8	6.48	6.02	4.35	4.82	5.70
10	-	5.80	4.46	4.87	5.48
12	6.36	5.49	4.49	4.98	5.42
14	-	5.65	4.62	4.96	5.38
16	6.45	5.68	4.72	5.05	5.42
Mittel	6.43	5.79	4.52	4.93	5.48

Versuchszeit (d)

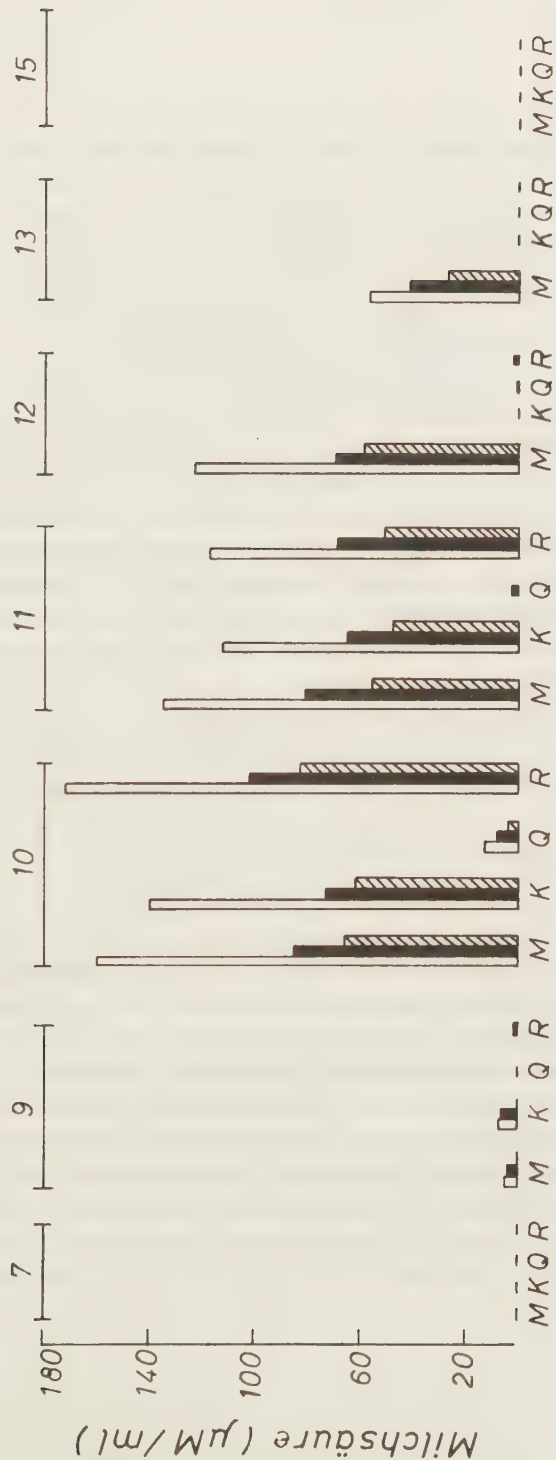


Abb. 5 Milchsäurekonzentration in der Pansenflüssigkeit bei Fütterung von Heu und Mais-Heurauten (8.-14. Tag) DL □, L ■, D ▨

im Pansen zu verzeichnen, der am 10. Tag, wenn auch mit erheblichen Unterschieden, bei allen Tieren die höchsten Werte während der genannten Versuchsperiode erreichte. Die Spitzenwerte betrugen - abgesehen von Schaf Q - 140 - 172 μM / ml bzw. 12.60 - 15.48 g / l; sie entsprachen damit dem rund 100fachen der physiologischen Blutkonzentration und dem etwa 1000fachen des normalen Gehalts im Pansen. Nach mäßig verminderten Werten am 11. Versuchstag verschwand die Milchsäure plötzlich am 12. Tag aus dem Pansen von 2 Tieren (K,R), bei einem weiteren (M) war am 13. Tag noch etwa ein Viertel des Spitzenwertes nachzuweisen, am 15. Tag nur noch Spuren. Die Maximalwerte von Schaf Q (10. Tag) erreichten nur um einen Faktor 10 geringere Werte als die anderen Tiere. Eine Erklärung für dieses Ausnahmeverhalten, welches auf einen bereits adaptierten Zustand hindeutet, ist aus den Meßwerten nicht ersichtlich.

Bei den Milchsäure-Isomeren ergab sich eine auffällige Einheitlichkeit: Auf das D-Isomer entfielen bei den erhöhten Konzentrationen 39 - 46 Mol% und im Mittel 43 Mol% der DL-Milchsäure, d.h. das Isomeren-Verhältnis war mit 0.9 D : 1.0 L nahezu ausgeglichen.

Erhöhte Konzentrationen von DL-Milchsäure am 10. - 13.Tag gingen mit einer deutlichen Erniedrigung des pH-Wertes in der Pansenflüssigkeit auf Werte $< \text{pH } 5.0$ einher. Innerhalb der tageszeitlichen Schwankungen wurden dabei Minimalwerte von pH 4.35 erreicht. Obgleich bei allen Tieren nach Rückumstellung auf Heurvation am 15. Tag keine höheren Milchsäurespiegel als am 7. Tag bei Heurvation (vor Umstellung auf Mais) vorlagen, waren die entsprechenden pH-Werte noch um rund eine Einheit niedriger. Daraus geht hervor, welche große Bedeutung für die pH-Regulation auch anderen Faktoren als der Milchsäurekonzentration zuzuschreiben ist.

3.3.2 Beziehungen zwischen Milchsäurekonzentration, D-Milchsäureanteil und pH-Wert

Zwischen der Konzentration von DL-Milchsäure und dem pH-Wert im Pansen ergaben die Überfütterungsversuche deutliche Zusammenhänge, die aus den Werten der Tabellen 16 - 19 ersichtlich sind. In Abbildung 6 sind diese Beziehungen sowohl für DL- als auch für D-Milchsäure dargestellt. Wie daraus hervorgeht, beginnt DL-Milchsäure bei Werten unter pH 5.5 langsam und unter pH 5.0 stark anzusteigen; D-Milchsäure verhält sich ebenso.

Aus den vorgenannten Daten ist allerdings nicht ohne weiteres ersichtlich, daß mit sinkendem pH-Wert in der Pansenflüssigkeit auch der Anteil von D-Milchsäure am DL-Milchsäuregehalt zunimmt. Einen derartigen Zusammenhang zeigt Abbildung 7 auf: Sinkt der pH-Wert von etwa pH 5.5 auf pH 4.5, so nimmt der relative Gehalt an D-Milchsäure (angegeben in Mol% von DL) etwa von 25 auf 50 Mol% zu. Die Beziehung erscheint in diesem Bereich linear und ist mit $r = - 0.84$ ($p < 0.001$) hochsignifikant.

3.3.3 Milchsäure-Isomere im Blut und Harn und pH-Werte im Harn

Die während des Überfütterungsversuches ermittelten Milchsäuregehalte im Blut und in den sporadisch abgesetzten Harnproben sind in Tabelle 20 zusammengefaßt. Wie die enzymatischen Analysen der Blutproben zeigten, trat hier fast ausschließlich das L-Isomer auf; die Werte der D-Milchsäure von $0.2 \mu\text{M} / \text{ml}$ (18 mg/l) lagen an der unteren Grenze der Bestimmbarkeit. Auffällig war bei den Blutproben eine zum Teil beträchtliche Hämokonzentrierung, die sich bei der Entnahme an der dunkleren Farbe und einer "Eindickung" zu erkennen gab. Andere Folgeerscheinungen der Pansenacidose traten indessen nicht zutage.

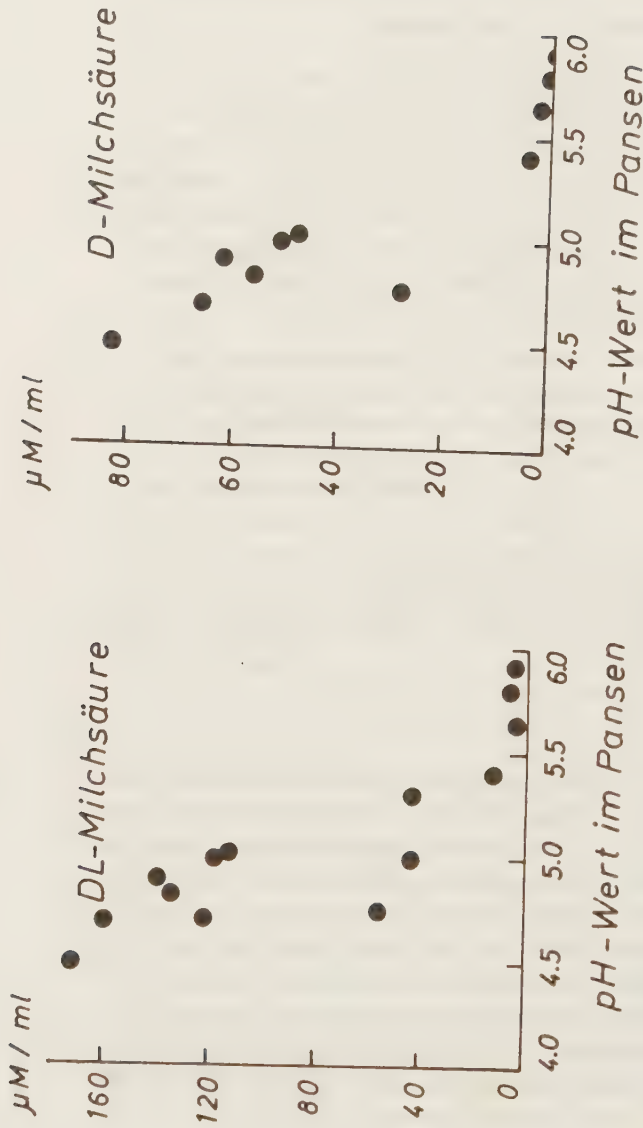


Abb. 6 Zusammenhänge zwischen Milchsäurekonzentration und pH - Wert in der Pansenflüssigkeit bei Überfütterung mit Stärke

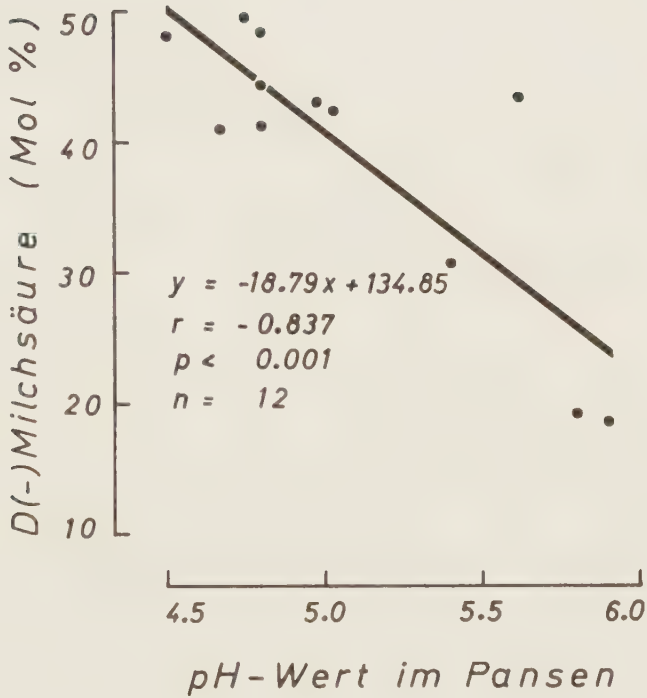


Abb. 7 Beziehung zwischen dem Anteil des D-Isomers in der DL-Milchsäure und dem pH - Wert in der Pansenflüssigkeit bei Überfütterung mit Stärke

Tabelle 20

Milchsäurekonzentrationen im Blut und im Harn bei Fütterung von Heu (1.-7.u.ab 15.Tag) und Mais-Heuration (8.-14.Tag)

Schafe	Versuchszeit (d)				
	7	9	11	13	15
L-Milchsäure im Blut ($\mu\text{M}/\text{ml}$) ^a					
K	1.1	1.2	1.1	1.3	1.3
M	0.5	0.7	-	0.9	1.0
Q	0.9	1.2	1.3	1.4	0.9
R	1.5	1.2	0.9	2.4	1.3
Mittel	1.0	1.1	1.1	1.5	1.1
D-Milchsäure im Harn ($\mu\text{M}/\text{ml}$) ^b					
K	1.0	1.2	-	2.6	1.2
M	0.9	1.3	-	1.2	0.8
Q	1.0	1.2	-	2.6	1.1
R	0.5	0.8	-	0.7	1.3
Mittel	0.9	1.1	-	1.8	1.1

a) alle Werte für D-Milchsäure $< 0.2 \mu\text{M}/\text{ml}$

b) alle Werte für D-Milchsäure $< 0.1 \mu\text{M}/\text{ml}$

Die Ermittlung des Milchsäuregehaltes im Harn war durch die sporadische Folge der Miktionen erschwert. Am 10.-12. Tag war bei den Tieren K, M und R eine - nicht unerwartete - Anurie zu verzeichnen, die zusammen mit der Futterverweigerung, den pH-Werten im Pansen und der Eindickung des Blutes das klinische Bild der Pansenacidose ergänzte. Außer DL-Milchsäurebestimmungen mit dem kolorimetrischen Verfahren wurden wegen der geringen Höhe der Werte nur enzymatische D-Milchsäurebestimmungen durchgeführt. Sie zeigten ein deutliches Übergewicht des L-Isomers an. Erhöhte Werte als Folge der Pansenacidose deuten sich am 13. Tag insofern an, als die DL-Bestimmung hier im Mittel doppelt so hohe Werte ergab wie am 7. Tag. Die begrenzte Spezifität der Methode, welche auch für den relativ hohen Ausfall aller Werte verantwortlich sein mag, läßt keine eindeutige Aussage zu.

Demgegenüber zeichnete sich in den pH-Werten des Harnes, wie sie in Tabelle 21 mit den jeweiligen Uhrzeiten der Gewinnung angegeben und den entsprechenden Tagesmittelwerten des Pansen-pH gegenübergestellt sind, eine deutliche Wirkung der Pansenacidose ab. Bei allen Tieren sank der pH-Wert im Harn spätestens bis zum 13. Tag - auch hier fehlten Zwischenproben infolge der Anurie - merklich, bei dem ausgeprägtesten Fall der Pansenacidose (Schaf M) bereits am 9. Tag, obwohl sich hier die Pansen-pH-Werte von den anderen Tieren nur wenig unterschieden. Soweit die pH-Werte am 13., 15. und 18. Tag unter pH 6.0 lagen, waren sie für Pansen und Harn sogar numerisch angenähert identisch. Besonders bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß sich wie in der Pansenflüssigkeit so auch im Harn die pH-Werte bis zum 18. Tag, d. h. 4 Tage nach Rückumstellung auf Heurration noch nicht normalisiert hatten.

Wie aus Abbildung 8 ersichtlich ist, bestand zwischen den pH-Werten in der Pansenflüssigkeit und im Harn ein enger

Tabelle 21

pH-Werte in Pansen* und Harn (h) bei Heufütterung (1.-7. und ab 15. Versuchstag)
und Mais-Heurration (8.-14. Tag)

Schaf	4	7	Versuchszeit (d)			
			9	13	15	18
K	Pansen	6.71	5.83 7.21 (14)	5.63	5.45 5.45 (13)	5.65
	Harn	7.50 (8)		5.60 (16)		5.55 (10)
M	Pansen	6.99	5.45 5.40 (13)	4.76	5.46 —	5.47
	Harn	7.82 (8)		—		5.55 (13)
Q	Pansen	6.44	5.68 7.40 (13)	5.66	5.66 5.88 (13)	5.81
	Harn	7.82 (8)		5.70 (20)		5.95 (10)
R	Pansen	6.56	5.79 7.20 (13)	5.48	5.11 —	5.40
	Harn	8.16 (8)		5.40 (20)		6.05 (13)

*Pansen-pH, Tagesmittel (8.00 - 16.00 Uhr)

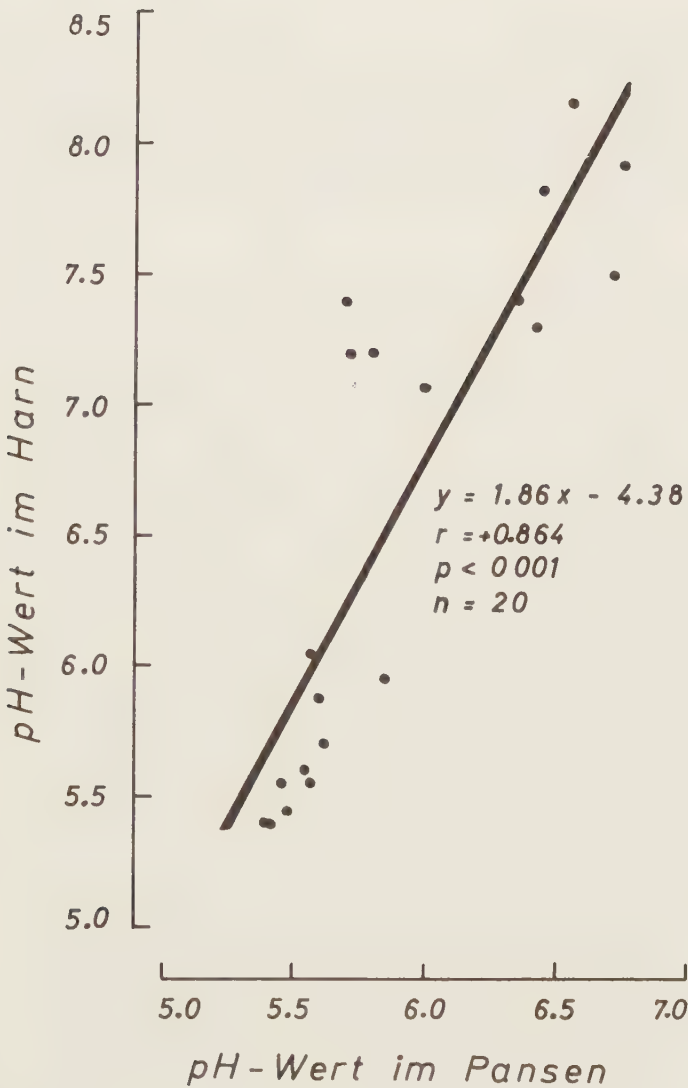


Abb. 8 Beziehung zwischen den pH-Werten in der Pansenflüssigkeit und im Harn bei Überfütterung mit Stärke

direkter Zusammenhang ($r = +0.86$), der sich statistisch als hochsignifikant ($p < 0.001$) erwies. Die von der Regressionsgeraden am weitestens abweichenden Werte mit bereits erniedrigtem Pansen-pH aber noch hohem Harn-pH sind der Übergangsphase am 9. Versuchstag zuzuordnen.

3.4 Vergleichende Auswertung der D-Milchsäurebestimmung mit verschiedenen Methoden

Die fast in allen Versuchen an denselben Proben durchgeführten Milchsäurebestimmungen für DL mit der kolorimetrischen und für D sowie L mit den spezifischen enzymatischen Methoden ermöglichen einen methodischen Vergleich der bisher überall praktizierten Differenzbestimmung von D-Milchsäure ($DL - L = D$) und der direkten enzymatischen Bestimmung des D-Isomers. Für einen breiten Vergleich eigneten sich wegen Anzahl der Proben und des Konzentrationsbereiches besonders die an der Pansenflüssigkeit durchgeführten Bestimmungen. Eine Gegenüberstellung zeigt Tabelle 22. Darin sind 4 Konzentrationsbereiche gebildet, deren Breite und Stichprobenumfang sich aus der Art der durchgeführten Versuche ergibt. Die beiden Konzentrationen verzeichnete Streuung bezieht sich darum auf die Stichproben und nicht auf die Wiederholbarkeit.

Da es sich innerhalb der Konzentrationsbereiche bei dem einen wie beim anderen Verfahren um dieselben Proben handelte, sollten bei Übereinstimmung identische Mittelwerte resultieren. Tatsächlich lieferte die Differenzmethode Mittelwerte, die in den Konzentrationsbereichen 0 - 5 und 5 - 10 mM D-Milchsäure um +5.8 bzw. +8.1 % höher lagen als bei der enzymatischen Bestimmung. In den Konzentrationsbereichen von 10 - 30 und 30 - 90 mM war der Stichprobenumfang wesentlich geringer, trotzdem traten mit +2.4 und -1.9 % deutlich verminderte Abweichungen zwischen den Methoden auf.

Tabelle 22

Methodischer Vergleich zwischen der kolorimetrisch - enzymatisch Differenz - Bestimmung (DL - L) und der enzymatischen Direktbestimmung (D) der D-Milchsäurekonzentration in Pansenflüssigkeit

Konzentrationsbereich von D-Milchsäure mM	Doppel- proben n	Konzentration von D-Milchsäure bei Bestimmung als DL - L	D	Unterschied in % (D = 100)
0 - 5	17	3.09 ± 1.21	2.93 ± 1.06	+ 5.8
5 - 10	18	7.33 ± 1.48	6.78 ± 1.76	+ 8.1
10 - 30	6	14.93 ± 3.14	14.61 ± 6.39	+ 2.4
30 - 90	7	59.57 ± 10.56	60.71 ± 11.60	- 1.9

4.0 DISKUSSION

Diese Arbeit ging zum einen von einer metabolischen Fragestellung aus. Allen früheren Untersuchungen - eine ausführliche Übersicht findet sich bei MACKENZIE (1967) - haftete die Schwierigkeit einer nur indirekten Ermittlung von D(-)-Milchsäure an.

Soweit bekannt, sind dieses die ersten experimentellen Untersuchungen an Wiederkäuern unter Verwendung einer für D-Milchsäure spezifischen Bestimmungsmethode. Daraus ergab sich der (in den Ergebnissen zwangsläufig am Ende stehende) Vergleich mit der früher geübten Differenzmethode. Diese Gegenüberstellung fiel für Pansenflüssigkeit recht zufriedenstellend aus, denn lediglich im Bereich bis 10 mM D-Milchsäure führte die Differenzmethode zu einer Überschätzung von 6 - 8 %. Da die diesbezüglichen Werte den Zuckerinfusionsversuchen entstammten, kann eine unzureichende Wirksamkeit des in der BARKER - SUMMERSON - Methode (BARKER, 1957) einbezogenen Entzuckerungsverfahrens nicht ausgeschlossen werden. Hinsichtlich des Allgemeingebruchs erscheint indessen die Überschätzung nicht schwerwiegend genug, um frühere Ergebnisse von D-Milchsäurebestimmungen bei Wiederkäuern wie z. B. von KRONFELD (1964), RYAN (1964), WILLIAMS und MACKENZIE (1965), und späteren Versuchsanstellern ernstlich in Zweifel zu ziehen. Im niederen Konzentrationsbereich mögen sich Störfaktoren besonders bemerkbar machen, wie auch aus verglichenen Harnanalysen hervorging. So hätte z. B. bei den in Tabelle 15 aufgeführten Werten das Differenzverfahren nach 0 und 60-180 Minuten 0.24 und 0.27 bzw. 0.58 und 0.58 $\mu\text{M/ml}$ ergeben anstatt 0.10 $\mu\text{M/ml}$ (oder gar darunter) bei Direktbestimmung - eine Überschätzung von weit über 100 %.

Die hauptsächliche Fragestellung war auf die physiologische Bedeutung des sogenannten unphysiologischen D-Isomers der Milchsäure im Vormagenstoffwechsel gerichtet. Frühere Arbeiten haben das Auftreten von D-Milchsäure lediglich mit pathologischen Erscheinungen in Zusammenhang gebracht, so insbesondere DUNLOP und HAMMOND (1965) bei der für Wiederkäuer typischen "D-lactic acidosis". Etwa gleichzeitig zeigten allerdings WHANGER und MATRONE (1966, 1967), daß nicht nur Überfütterung mit leicht vergärbaren Kohlenhydraten sondern auch Schwefelmangel-Diäten zum Auftreten hoher Konzentrationen von D-Milchsäure in der Pansenflüssigkeit und im Harn von Schafen führen können. Von diesen beiden ernährungsbedingten Stoffwechselerkrankungen her schienen Untersuchungen über die physiologische Rolle von D-Milchsäure im Vormagenstoffwechsel besonders vonnöten.

Nach früheren Berichten (DUNLOP - HAMMOND, 1965) beträgt die Letaldosis von Saccharose für Schafe 40 g/kg Körpergewicht, 10 - 20 g/kg rufen Verdauungsstörungen hervor und 30 g/kg ernste Intoxikationen. Demgegenüber enthalten Weidepflanzen nur im frühen Wachstumsstadium maximal 100 - 200 g Zucker und Fructosane je kg Trockenmasse - damit würde ein Schaf im Vergleich zur Indigestionen auslösenden Dosis von 600 - 1200 g Saccharose eine fast verschwindende Menge aufnehmen, an der sich aber die eigenen Infusionsversuche orientieren mußten.

Frühere Untersuchungen hatten zu dem Schluß geführt, (DUNLOP - HAMMOND, 1965, MACKENZIE, 1967), daß D-Milchsäure erst nach Entwicklung bestimmter Lactobacillus-Arten bzw. erst bei pH-Werten unter pH 5.0 gebildet wird. Aus den eigenen Befunden (Tab. 8 - 12) geht indes hervor, daß D-Milchsäure

- a) bereits bei physiologischen pH-Werten im Pansen (um pH 6) gebildet wird,

- b) teils in höherer Konzentration als das L-Isomer auftritt,
- c) sehr schnell entsteht und bereits nach 15 min Höchstwerte erreicht und
- d) unter diesen Bedingungen nicht akkumuliert, sondern ebenso rasch eliminiert wird wie das L-Isomer

Hieraus kann gefolgert werden, daß D-Milchsäure ein für den Wiederkäuerpansen physiologisches Isomer ist. Seine Produktion im Pansen kann kaum von der Entwicklung bestimmter Lactobacillus-Arten abhängen, denn selbst sehr schnellwüchsige Species könnten innerhalb 15 min nicht mehr als eine neue Zellgeneration erzeugen (HUNGATE, 1966). Außerdem ist deutlich geworden, daß Art und Menge des verabreichten Zuckers zwar auf das Isomerenverhältnis der Milchsäure Einfluß nehmen, aber nicht in sehr spezifischer Weise. Zumindest Glucose, Fructose und Saccharose führen unter physiologischen Bedingungen alle zur Bildung von D- und L-Milchsäure.

Bei stärkereichen Futtermitteln ist das Risiko einer Überfütterung sicherlich häufiger als bei Zuckern. Hier wurde die letale Dosis für Schafe mit 75 - 80 g gebrochener Weizen pro kg Körpergewicht angegeben (DUNLOP - HAMMOND, 1965), Rinder entwickelten nach Gabe von 25 - 62 g Getreide oder Mais/kg schwere Intoxikationen. In den hier erörterten Versuchen mit übergangsloser Umstellung auf eine stärkereiche Ration ("Überfütterungsversuch") lag die Dosis mit rund 15 - 20 g/kg deutlich darunter. In Versuchen von GIESECKE und GEIGES (1974) wurde bereits mit 20 g Mais/kg $G^{3/4}$ - das entsprach 6.7 - 7.2 g/kg G - die Grenzacidität von pH 6.0 unterschritten und die Amylaseaktivität im Pansen 5 - 10fach erhöht.

In den eigenen Versuchen entwickelte sich eine typische Pansenacidose (vgl. Tab. 16 - 19), wobei offenbar primär L- und sekundär D-Milchsäure auftrat. Gleichzeitig kam es zur Verweigerung der Futteraufnahme, die allerdings nach Ergebnissen von Rindern (TREMERE, MERRILL und LOOSLI, 1968) nicht von der Milchsäurekonzentration bzw. von der Acidität verursacht wird. Die eigenen Befunde lassen schon wegen der geringen Tierzahl keine diesbezüglichen Folgerungen zu.

Unter den Bedingungen des Überfütterungsversuches kam es zu einer Akkumulation von DL-Milchsäure im Pansen; dabei wurde mit 0.9 D : 1.0 L ein ähnlich enges Isomeren-Verhältnis erreicht wie DUNLOP und HAMMOND (1965) es mit 1.2 D : 1.0 L für den Rinderpansen bei Acidose angegeben haben. Extreme Verhältnisse unter in vitro-Bedingungen (RYAN, 1964) eignen sich nicht für den Vergleich. Bei allen Tieren mit hohem Lactatspiegel im Pansen erfolgte die Eliminierung des D-Isomers nach wenigen Tagen ebenso abrupt wie die der L-Milchsäure, d. h. es bestand offenbar keine Präferenz in den Mechanismen zur Beseitigung (Metabolisierung im Pansen, Resorption) des einen oder anderen Isomers. Allerdings ließ sich deutlich machen, daß unter den acidotischen Bedingungen nach Stärkeüberfütterung der relative Anteil von D-Milchsäure bis zum Maximum von etwa 50 Mol% linear mit der Acidität zunahm (wegen dieser Wechselwirkung wurde in Abb. 6 und 7 der pH-Wert nicht als variable Größe auf die Ordinate sondern wegen der in Abb. 7 gegebenen Beziehung überall auf der Abszisse aufgetragen).

Blut- und/oder Harnanalysen während der Versuche mit Zuckerinfusion und mit Stärkeüberfütterung sollten Rückschlüsse auf die Metabolisierung insbesondere des

D-Isomern der Milchsäure nach der Resorption zulassen. Schafe auf schwefelfreier Diät (WHANGER und MATRONE, 1966) zeigten erhöhte Milchsäurespiegel in Blut und Harn, und Energieverluste bei Ausscheidung von D-Milchsäure wurden in Betracht gezogen (WHANGER und MATRONE, 1967; MACKENZIE, 1967). Auch HUBER (1969) kam zu der Auffassung, daß die renale Ausscheidung der Hauptweg für die Beseitigung von D-Milchsäure ist. Durch intravenöse DL-Milchsäure-Infusion bei Schafen konnte später eine hohe Ausscheidung im Harn induziert werden (TELLE u. PRESTON, 1971), wobei allerdings keine Differenzierung der Isomeren erfolgte. Nach den eigenen Ergebnissen führten auch hohe D-Milchsäure-Konzentrationen im Pansen von rund 1500 mg pro 100 ml weder zur Erhöhung des Blutspiegels noch zur Ausscheidung im Harn. Daraus kann nur gefolgert werden, daß D-Milchsäure im Intermediärstoffwechsel weitgehend umgesetzt wurde. Im Harn trat trotzdem eine hohe Acidität auf, die zu der des Pansens eine enge Beziehung aufwies (vgl. Abb. 8). Die erhöhte Ausscheidung von Protonen ging allerdings nicht mit einer Eliminierung des Lactat-Anions einher.

Eine bemerkenswerte Diskrepanz zeigte sich bei einem Vergleich der Milchsäurekonzentration in Pansenflüssigkeit und Harn nach Milchsäureinfusion (vgl. Tab. 4 und 6) und bei Stärkeüberfütterung (vgl. Tab. 16 - 19 und 20): Im ersteren Fall wurden mehrfach höhere DL- und L-Milchsäureausscheidungen im Harn erzielt, obwohl die Milchsäurekonzentration im Pansen nur etwa $\frac{1}{3}$ bis $\frac{1}{2}$ so hoch war wie im Überfütterungsversuch. Als Erklärung hierfür kann angenommen werden, daß die im Milchsäure-Infusat verbliebenen Restpolymere (s.S.16) zwar resorbiert aber nicht weiter umgesetzt, sondern ausgeschieden wurden und schließlich infolge Säurebehandlung der Harnproben (Oxydation bzw. Eiweißfällung) als Monomere in die Milchsäurebestimmung eingingen. Ähnliche Versuche mit Handelsmilchsäure sollten darum mit Zurückhaltung interpretiert werden.

5.0 ZUSAMMENFASSUNG

An 4 Schafen mit Pansenkanülen wurde der Einfluß von DL-Milchsäure-, Zucker- und Stärkegaben auf die Konzentration von Milchsäureisomeren in der Pansenflüssigkeit und im Harn untersucht. Die Bestimmung von DL-Milchsäure erfolgte kolorimetrisch, die der D(-) und L(+) Isomere mit spezifisch-enzymatischen Methoden.

1. Intraruminale DL-Milchsäureinfusionen (1 M) bewirkten eine Zunahme im Harn ohne Akkumulation des D-Isomers. Innerhalb 6 Stunden wurden nur 0.19 - 0.28 % der Dosis ausgeschieden und offenbar mehr als 99 % metabolisiert.
2. Physiologische Gaben (0.25 - 0.5 M) von Glucose, Fructose und Saccharose bewirkten im Pansen binnen 30 min bei Werten um pH 6 maximale Milchsäuregehalte von 15 - 20 mM mit Isomerenverhältnissen (% D : % L) von 73 : 27, 48 : 52 und 52 : 48.
3. Der unterschiedliche Effekt von Glucose und Fructose auf die L-Milchsäurekonzentration war statistisch gut gesichert ($p \leq 0.01$). Wechselnde Saccharosegaben beeinflussten das D:L-Verhältnis unterschiedlich.
4. Die normale Milchsäurekonzentration im Harn variierte zwischen 0.2-0.7 mM mit einem Isomerenverhältnis von 24 : 76 bis 50 : 50. Nur nach der maximalen Zuckerdosis (0.5 M Saccharose) nahm die Konzentration des D-Isomers im Harn deutlich zu.

5. Bei Überfütterung mit einer Mais-Heurration (3 : 1) traten bei 3 Schafen innerhalb 2 Tagen maximale Milchsäurekonzentrationen im Pansen von 140 - 172 mM mit einem Isomerenverhältnis von 39 : 61 bis 46 : 54 im Bereich von pH 4 - 5 auf.
6. Zwischen pH (5.5 - 4.5) und dem Isomerenanteil von D-Milchsäure (rund 25 - 50 %) im Pansen bestand eine enge reziproke Beziehung ($r = -0.84$; $p < 0.001$).
7. Bei Erniedrigung des pH-Wertes im Pansen von pH 6.7 auf 5.5 sank der pH-Wert im Harn von pH 8.2 auf 5.4 ($r = +0.86$; $p < 0.001$). Die Konzentrationen von D- und L-Milchsäure im Harn lagen bei < 0.1 mM und 0.9 - 1.8 mM.
8. Wie ein abschließender Vergleich der enzymatischen Bestimmung von D-Milchsäure und der konventionellen Differenzmethode zeigte, führte letztere nur im Konzentrationsbereich bis 10 mM zu einer Überschätzung bis zu 8 %.

SUMMARY

The effect of DL-lactic acid, sugars and starch on the concentrations of lactic acid isomers in rumen fluid and urine was investigated in four sheep with rumen cannulas. DL-lactic acid was determined colorimetrically and D(-) and L(+) isomers by specific enzymatic methods.

1. Intraruminal infusion of DL-lactic acid (1 M) did not result in the accumulation of D-isomers in urine. Only 0.19 - 0.28 per cent of the dosis were excreted within 6 hours suggesting a metabolization of more than 99 per cent.
2. Physiological doses (0.25 - 0.5 M) of glucose, fructose and sucrose resulted within 30 min in maximal rumen lactate levels of 15 - 20 mM at about pH 6 with isomeric proportions (% D : % L) of 73 : 27, 48 : 52 and 52 : 48.
3. The different effects of glucose and fructose on L-lactate levels were statistically significant ($p < 0.01$). Varying doses of sucrose produced unsteady D:L proportions.
4. Normal lactate levels in urine ranged from 0.2 to 0.7 mM with isomeric proportions of 24 : 76 to 50 : 50. Only maximal sugar doses (0.5 M sucrose) increased the D-lactate level.

5. Overfeeding with a maize hay ration (3 : 1) increased the maximum lactate levels in the rumen of 3 sheep within 2 days to 140 - 172 mM with isomeric proportions of 39 : 61 to 46 : 54 and pH - values between pH 4 to 5.
6. A close reciprocal relationship ($r = -0.84$; $p < 0.001$) existed between rumen pH at a range of 5.5 to 4.5 and the proportion of D-lactate between 25 to 50 per cent.
7. Decreasing rumen pH - values from pH 6.7 to 5.5 resulted in a depression of urine pH from 8.2 to 5.4 ($r = +0.86$; $p < 0.001$). The concentrations of urine D- and L-lactate were < 0.1 mM and 0.9 - 1.8 mM.
8. A comparison between the enzymatic and the conventional differential methods of D-lactate determination indicated an overestimate up to 8 per cent by the latter at rumen lactate levels up to 10 mM.

6.0 LITERATURVERZEICHNIS

Allen u. Mitarbeiter, 1973

Ammonium salts as a source of crude protein
for feedlot cattle.

unveröffentlicht

Bancroft, W.D. u. H.L. Davis, 1931

The optical rotation of lactic acid.

J. biol. Chem., 35, 2508

Barker, S.B., 1957

in: Methods in enzymology, Bd. III, (S.P. Colowick
u. N.O. Kaplan)

Acedemic Press Inc., Publishers New York

Brin, M., 1965

Lactic acid - some definitions

Ann. N.Y. Acad. Sci., 119, 1084

Brüggemann, J., D. Giesecke u. M.J. Lawlor, 1966

Über die Produktion flüchtiger Fettsäuren im Pansen
von Schafen bei Verabreichung einer halbgereinigten
Diät.

Z. Tierphysiol. Tierern. Futtermittelkd., 21, 131

Brüggemann, J. u. D. Giesecke, 1967

Milchsäure im Pansen und mikrobieller Abbau in vitro.

Zbl. Vet. Med., 15, 470

Brüggemann, J. u. D. Giesecke, 1968

Adaptationsvorgänge im Pansen bei Dauerinfusion
von Milchsäure.

Z. Tierphysiol. Tierern. Futtermittelkd., 24, 257

Cammack, R., 1969

Assay, purification and properties of mammalian
D-2-hydroxy acid dehydrogenase

Biochem. J., 115, 55

Chomyszyn, M. et al., 1964

zitiert nach Loosli, J.K. u. I.W. McDonald, 1968

siehe dort

- C.S.I.R.O., Australia, 1949 - 1959
Toxicity of large rations of wheat.
Ann. Repts., 1 - 11
- Demeyer, D. u. D. Giesecke, 1973
Abbau der Kohlenhydrate und Biochemie der Gärung
im Pansen.
In Giesecke, D. u. H.K. Henderickx: Biologie und Bio-
chemie der mikrobiellen Verdauung.
BLV Verlagsgesellschaft, München-Bern-Wien, 1973
- Dirksen, G., 1965
Über die Pansenacidose des Rindes.
Vet. Med. Nachrichten, Heft 2, 79
- Dirksen, G., 1967
Beitrag zur Biochemie der Pansenacidose des Rindes.
Schweizer Archiv für Tierheilkunde, 109, 28
- Dirksen, G., 1970
Acidosis.
In A.T. Phillipson: Physiology of digestion and
metabolism in the ruminant.
Oriel Press, Newcastle
- Dunlop, R.H. u. Hammond, P.B., 1965
D-lactic acidosis of ruminants.
Annals New York Acad. of Sciences, 119, 1109
- Dunlop, R.H., 1970
Discussion of the paper by G. Dirksen in
A.T. Phillipson: siehe Dirksen, 1970
- Ekern, A. u. J.T. Reid, 1963
Efficiency of energy utilisation by young cattle
ingesting diets of hay, silage, and hay supplemented
with lactic acid.
J. Dairy Sci., 46, 522
- Elliot, J.M., E. Bennett u. J.G. Archibald, 1957
Effect of feeding certain silages on the relative
concentrations of rumen volatile fatty acids.
J. Dairy Sci., 40, 356

- Elsden, S.R., B.E. Volcani, F.M.C. Gilchrist u.
D. Lewis, 1956
Properties of a fatty acids forming organisms isolated from the rumen of sheep.
J. Bacteriol., 72, 681
- Giesecke, D., 1968
Über die Eliminierung von Milchsäure aus dem Pansen.
Zbl. Vet. Med., 15, 656
- Giesecke, D. u. C. Bartelmus, 1972
Ernährungsphysiologische und biochemische Faktoren bei der latenten und subakuten Pansenacidose.
Tierärztl. Umschau, 27, 371
- Giesecke, D. u. H.K. Hendrickx, 1973
Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung.
BLV Verlagsgesellschaft, München-Bern-Wien
- Giesecke, D. u. R. Geiges, 1974
Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose.
Zbl. Vet. Med., 21, 261
- Gutierrez, J., R.E. Davis, I.L. Lindahl u. E.J. Warwick, 1959
zitiert nach Mackenzie, 1967, siehe dort
- Hohorst, H.J., 1962
L(+)Lactat, Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und DPN.
In H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße
- Holten, C.H., 1971
Lactic acid.
Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße
- Hopgood, M.F. u. D.J. Walker, 1967
Succinic acid production by rumen bacteria.
Aust. J. Biol. Sci., 20, 689

- Huber, T.L., 1969
Effect of ration on liver oxidation of racemic
lactate and of thiamine on blood lactate clearance.
J. Anim. Sci., 28, 98
- Hueter, F.G., J.C. Shaw u. R.N. Doetsch, 1956
Absorption and dissimilation of lactates added to
the bovine rumen and the resulting effects on
blood glucose.
J. Dairy Sci., XXXIX, 1430
- Hungate, R.E., 1966
The rumen and its microbes.
Academic Press, New York-London
- Jayasuriya, G.C.N. u. Hungate, R.E., 1959
Lactate conversions in the bovine rumen.
Arch. Biochem. Biophys., 82,
- Johns, A.T., 1949
Mechanism of propionic formation in bacterial
fermentation.
Nature, 164, 620
- Juhász, B., 1972
Some aspects of N-metabolism in ruminants.
aus Tracer studies on non-protein nitrogen
for ruminants,
I.A.E.A., Wien
- Kronfeld, D.S., 1964
zitiert nach D.D.S. Mackenzie, 1967, siehe dort
- Ladd, J.N. u. D.J. Walker, 1965
zitiert nach D.D.S. Mackenzie, 1967, siehe dort
- Loosli, J.K. u. J.W. McDonald, 1968
Nonprotein nitrogen in the nutrition of ruminants.
FAO Agricultural Studies, No. 75
- Mackenzie, D.D.S., 1967
Production and utilization of lactic acid by the
ruminant. A review.
J. Dairy Sci., 50, 1772

Mangold, E., 1950

Die Verdauung bei den Nutztieren.

Akademie-Verlag, Berlin

Ogimoto, K. u. T. Suto, 1965

zitiert nach D. Giesecke, 1973, Biologie und Biochemie der Bakterien im Pansen.

In D. Giesecke u. H.K. Hendrickx: Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung.

BLV Verlagsgesellschaft, München-Bern-Wien

Ogimoto, K. u. D. Giesecke, 1974

Untersuchungen zur Genese und Biochemie der Pansenacidose. 2. Microorganismen und Umsetzung von Milchsäure-Isomeren.

Zbl. Vet. Med., 21, 532

Ørskov, E.R., W.P. Flatt, P.W. Moe u. R.R. Oltjen, 1967

Caproic acid and ethanol in ruminal ingesta of cattle receiving purified diets.

J. Dairy Sci., 50, 239

Orth, A. u. W. Kaufmann, 1961

Die Verdauung im Pansen und ihre Bedeutung für die Fütterung der Wiederkäuer.

Verlag Paul Parey, Hamburg-Berlin

Paynter, M.J.B. u. S.R. Elsdon, 1970

zitiert nach D. Giesecke, 1973, Biologie und Biochemie der Bakterien im Pansen.

In D. Giesecke u. H.K. Hendrickx: Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung.

BLV Verlagsgesellschaft, München-Bern-Wien

Ryan, R.K., 1964

Concentrations of glucose and low-molecular-weight acids in the rumen of sheep changed gradually from a hay to a hay-plus grain diet.

Am. J. Vet. Res., 25, 653

Sachs, L., 1972

Statistische Auswertungsmethoden.

Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

- Satter, L.D. u. W.J. Esdale, 1967
In vitro lactate metabolism by ruminal ingesta.
Applied Microbiology, 16, 680
- Schaadt, H. u. R.R. Johnson, 1968
Effects of maturity, fermentation time, and limestone
and urea treatment on D(-) and L(+)lactic acid in
corn silage.
J. Dairy Sci., 51, 802
- Sutton, J.D., 1968
Rumen fermentation of soluble carbohydrates in cows
receiving diets high in flaked maize.
Proc. Nutr. Soc., 27, 17
- Sutton, J.D., 1968
The fermentation of soluble carbohydrates in rumen
contents of cow fed diets containing a large
proportion of hay.
Br. J. Nutr., 22, 689
- Telle, P.P. u. R.L. Preston, 1971
Ovine lactic acidosis: intraruminal and systemic.
J. Anim. Sci., 33, 698
- Tremere, A.W., W.G. Merrill u. J.K. Loosli, 1968
Adaptation to high concentrate feeding as related
to acidosis and digestive disturbances in dairy
heifers.
J. Dairy Sci., 51, 1065
- Tubbs, P.K., 1964
The metabolism of D- -hydroxy acids in animal tissues.
Annals N.Y. Acad. Sci., 119, 920
- Wallnöfer, Baldwin u. Stagno, 1966
Conversion of C¹⁴-labeled substrates to volatile
fatty acids by the rumen microbiota
Applied Microbiology, 14, 1004

Whanger, P.D. u. G. Matrone, 1967

Metabolism of lactic, succinic and acrylic acids
by rumen microorganisms from sheep fed sulfur-ade-
quate and sulfur-deficient diets.

Biochim. Biophys. Acta, 136, 27

Williams, V.J. u. D.D.S. Mackenzie, 1965

zitiert nach Mackenzie, 1967, siehe dort

Herrn Professor Dr. Dr. Dr.h.c.mult. J. Brüggemann
danke ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes
im Institut für Tierphysiologie der Universität
München.

Besonders danke ich Herrn Professor Dr. D. Giesecke
für die Überlassung des Themas und für seine stets
freundlichen und jederzeit gewährten wissenschaft-
lichen Hilfen bei der Durchführung dieser Arbeit.

Mein Dank gilt auch Frau S. Wiesmayr für Ihre Be-
mühungen während der praktischen Arbeit und bei
der Fertigstellung dieser Schrift.

LEBENSIAUF

Claus Bartelmus	geb. am 2. September 1939 in Waldenburg/Niederschlesien
Eltern	Kurt Bartelmus, prakt. Tierarzt, Suse Bartelmus
1945	Volkschuleintritt in Kaufbeuren/Allgäu
1958	Mittlere Reife in Illertissen/Bayern
1961	Chemotechnikerexamen in Isny/Allgäu Bundeswehr Angestellter bei der Deutschen Erd- öl AG Hamburg
1967	Reifeprüfung am Abendgymnasium St. Georg, Hamburg
1967	Studienbeginn der Tiermedizin in München
1972	Staatsexamen und Approbation
1973	Assistent in Schleswig-Holstein
1974	Praxisübernahme und Niederlassung als prakt. Tierarzt in Kimrats- hofen/Allgäu

